KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ŞEKER HASTALIĞI TEDAVİSİNDE KULLANILAN İNSÜLİN(INS) GENİNİN HAYVAN TÜRLERİNDEKİ GEN UYUMUNUN TESPİTİ

MERVE BAHAR DOĞAN

KOCAELİ 2020

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ŞEKER HASTALIĞI TEDAVİSİNDE KULLANILAN İNSÜLİN(INS) GENİNİN HAYVAN TÜRLERİNDEKİ GEN UYUMUNUN TESPİTİ

MERVE BAHAR DOĞAN

Prof.Dr. Emine DOĞRU BOLAT		
Danışman,	**Kocaeli Üniversitesi**	**.....**
Prof.Dr. Celal ÇEKEN		
Jüri Üyesi,	**Sakarya Üniversitesi**	**.....**
Dr.Öğr. Üyesi Serdar SOLAK		
Jüri Üyesi,	**Kocaeli Üniversitesi**	**.....**

Tezin Savunulduğu Tarih: 27.07.2020

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Şeker hastalığı ülkemizde ve dünyada sık rastlanan sürekli devam eden hastalıklar içinde önemli bir yer tutmaktadır. Şeker hastalığı (diabetes mellitus) her yaş grubunda meydana gelmekte ve hastalığın giderek artış göstermesi nedeniyle önemli bir sağlık sorunu olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmada, seçilen bir gen bölgesine ait DNA/protein dizileri istenilen hayvanlardaki gen dizileri uluslararası veri tabanlarından (NCBI/Ensembl) çekilip ClustalW genom tarayıcısı ile hizalama ve karşılaştırma yapılarak INS geninin domuz geni ve diğer hayvan genleri ile olan uyumu gösterilmiştir. MEGA X programı ile filogenetik ağaç oluşturularak INS geninin diğer türler ve hayvanların kendi türleri içerisinde olan uyumu gösterilmiştir.

Çalışmalarım boyunca her daim destek veren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Emine DOĞRU BOLAT'a, çalışmalarım sürecinde fikir alışverişinde bulunduğum Sayın Doç. Dr. Fikriye POLAT'a, çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen arkadaşım Kübra KILIÇ'a, bugünlere gelmemde büyük emeği bulunan anneme, desteklerini esirgemeyen aileme içtenlikle teşekkür ederim.

Ağustos-2020 Merve Bahar DOĞAN

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR i
İÇİNDEKİLER ii
ŞEKİLLER DİZİNİ iii
TABLOLAR DİZİNİ iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ v
ÖZET vi
ABSTRACT vii
GİRİŞ 1
1. GENEL BİLGİLER 3
1.1. Biyoinformatik Nedir? 3
1.2. Diyabet Hastalığı Nedir? 4
1.3. İnsülin'in Keşfi 5
1.4. İnsülin'in Tarihi 7
1.5. INS ile İlgili Yapılan Çalışmalar 7
2. MALZEME VE YÖNTEM 10
2.1. Kullanılan Sistemler 10
2.1.1. DNA dizi analizi 10
2.1.2. Ensembl 10
2.1.3. BLAST 10
2.1.4. NCBI 11
2.1.5. ClustalW 12
2.1.6. Maksimum likelihood metodu (ML) 12
2.1.7. MEGA 12
2.1.8. FASTA 20
3. FİLOGENETİK ANALİZ SONUÇLARI 21
3.1. Gen Dizisi FASTA Formatının Hazırlanması 21
3.2. Gen Dizisi MEGA Programı Uygulaması 27
3.3. Gen Dizisi Filogenetik Ağaç Oluşturulması 29
3.4. Protein Dizisi FASTA Formatı Hazırlanması 29
3.5. Protein Dizisi MEGA Programı Uygulaması 31
3.6. Protein Dizisi Filogenetik Ağaç Oluşturulması 32
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 34
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 36
KAYNAKLAR 38
KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER 42
ÖZGEÇMİŞ 43

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Düzenleme ve hizalama oluşturma 13
Şekil 2.2. FASTA formatı 13
Şekil 2.3. DNA hizalama....14
Şekil 2.4. ClustalW ayarları....14
Şekil 2.5. Dizi hizalama 15
Şekil 2.6. MEGA formatı 15
Şekil 2.7. Dosyanın açılması 16
Şekil 2.8. DNA ve protein modelleri seçimi 16
Şekil 2.9. Analiz tercihleri....17
Şekil 2.10. MEGA gama değeri....17
Şekil 2.11. Mesafe hesaplama 18
Şekil 2.12. Gamma parametresi....18
Şekil 2.13. Mesafe değerleri....19
Şekil 2.14. Maksimum olabilirlik ağacı 19
Şekil 2.15. Analiz ayarları....20
Şekil 3.1. İnsan INS geni baz dizisi 21
Şekil 3.2. Canlıların ClustalW baz uzunlukları 24
Şekil 3.3. İnsan ve hayvan türlerinin eşleştirme sonucu 25
Şekil 3.4. Bonobo ve şempanze benzerlik oranı....26
Şekil 3.5. Hayvan türlerinin eşleştirilme görüntüsü 1....26
Şekil 3.6. Hayvan türlerinin eşleştirme görüntüsü 2....27
Şekil 3.7. MEGA programı baz dizisi....28
Şekil 3.8. DNA Gama değeri....28
Şekil 3.9. Gen bölgeleri ile genetik uzaklıkları 28
Şekil 3.10. ML metodu ile oluşturulan moleküler filogenetik ağacı 1 29
Şekil 3.11. INS protein dizisi eşleştirmesi 32
Şekil 3.12. Protein gama değeri....32
Şekil 3.13. Protein gen bölgeleri ve genetik uzaklıkları 33
Şekil 3.14. ML metodu ile oluşturulan moleküler filogenetik ağacı 2 34

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1.1. İnsülin'in keşfi 6
Tablo 3.1. Canlıların DNA dizilerinin erişim numaraları 22
Tablo 3.2. Canlıların protein dizilerinin erişim numaraları 30

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltmalar

A	: Adenin
BLAST	: The Basic Local Alignment Search Tool (Temel Yerel Hizalama Aracı)
C	: Sitozin
CLUSTALW	: Multiple Sequence Alignment (Çoklu Dizi Hizalaması)
DM	: Diabetes Mellitus (Şeker Hastalığı)
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
G	: Guanin
IGFBP	: 6 Yüksek Afiniteli Bağlanma Proteini
IGFIR	: İnsülin Büyüme Faktörü Reseptörü
INS	: İnsülin
IR	: İnsülin Reseptörü
MEGA	: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (Moleküler Evrimsel Genetik Analiz)
ML	: Maximum Likelihood (Maksimum Olasılık)
NCBI	: National Center for Biotechnology Information (Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi)
T	: Timin
U	: Urasil
VEP	: Varyant Effect Predictor (Değişken Etki Belirleyicisi)

ŞEKER HASTALIĞI TEDAVİSİNDE KULLANILAN İNSULİN(INS) GENİNİN HAYVAN TÜRLERİNDEKİ GEN UYUMUNUN TESPİTİ

ÖZET

Şeker hastalığı ülkemizde ve dünyada sık rastlanan sürekli devam eden hastalıklar içinde önemli bir yer tutmaktadır. Şeker hastalığı (diabetes mellitus) her yaş grubunda meydana gelmekte ve Dünya Sağlık Örgütü diyabeti, hastalığın giderek artış göstermesi nedeniyle önemli bir sağlık sorunu olarak kabul etmektedir. Midenin hemen arkasında yer alan pankreas insülin üreterek, canlının ihtiyaç duyulması halinde bu insülini kan dolaşımına veren organımızdır. Biyoinformatik bilimi veri çeşidi olarak çoğunlukla genetik veri ve gen ifadesini kullanmaktadır. Genetik veri ise canlının, DNA özelliklerinin kalıtsal ve kalıtsal olmayan ifadeleridir. Bu özellikleri inceleme yöntemleri günümüzde sekanslama teknolojisi ile gerçekleşmektedir.

Bu çalışmada, BLAST veri tabanı üzerinde INS geni bulunan diğer canlı türleri tespit edilmiştir. NCBI ve Ensembl'dan diziler tespit edilerek erişim numaraları (Accession Number) ile birlikte kaydedilmiştir. İncelenen hayvan türlerindeki genler ile insan geni arasındaki uyum ClustalW (Çoklu Dizi Hizalayıcısı) ile ayrı ayrı FASTA (DNA ve protein sekansları için evrensel yazı formatı) şeklinde kaydettiğimiz DNA ve protein dizileri hizalanmıştır. Ücretsiz bir program olan MEGA X (Moleculer Evolutionary Genetic Analysis) programında modelleme yöntem ve mesafesi (Maximum Likelihood metodu Tamura-Nei modeli (1993), Bootstrap 1000) belirlenerek filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Bu tespit doğrulanmış olup korunan gen bölgelerinin gen dizileri gösterilmiştir. İnsanda bulunan INS geninin diğer hayvanlarla olan gen uyumunun INS gen bölgeleri ile moleküler düzeyde gen uyumunun tespitini yapmak amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: DNA, Domuz Geni, Filogenetik Analiz, İnsülin, Protein.

DETERMINATION OF COMPATIBILITY OF ANIMAL SPECIES' INSULIN (INS) GENE USED IN DIATEBES TREATMENT

ABSTRACT

Diabetes has an important place in the ongoing diseases that are common in our country and in the world. Diabetes mellitus occurs in all age groups and the World Health Organization considers diabetes as an important health problem due to the increase of disease. The pancreas, located behind the stomach, is our organ that produces insulin and gives this insulin to the bloodstream if needed. Bioinformatics science mostly uses genetic data and gene expression as a data type. Genetic data, on the other hand, are hereditary and non-hereditary expressions of living things' DNA features. Methods for examining these features are realized by sequencing technology today.

In this study, other species with INS gene on BLAST database were determined. Sequences from NCBI and Ensembl were detected and recorded with their access numbers. The compatibility between genes in the examined animal species and human gene is aligned separately with the ClustalW (Multiple Sequence Aligner) and the DNA and protein sequences we recorded separately as FASTA (the universal font format for DNA and protein sequences). Phylogenetic tree was created by determining the modeling method and distance (Maximum Likelihood method Tamura-Nei Model (1993), Bootstrap 1000) in MEGA X (Molecular Evolutionary Genetic Analysis) program, which is a free program. This finding has been confirmed and gene sequences of protected gene regions are shown. It is aimed to determine the gene compatibility of the INS gene in humans with other animals with the INS gene regions at the molecular level.

Keywords: DNA, Pig Gene, Phylogenetic Analysis, Insulin, Protein.

GİRİŞ

Diabetes Mellitus (DM) insülin eksikliği sonucu ortaya çıkan kronik hiperglisemi, karbonhidrat, protein ve yaş metabolizmasında bozukluk vb sorunlar ile seyreden bir hastalıktır. Tüm dünyada en sık rastlanan endokrin hastalıklardan birisi Diabetes Mellitus' tur [1].

Günümüzde olağanüstü bir hızda artış gösteren biyolojik veriler ve bu verilerin kullanılabilir hale getirilerek işlenmesi ihtiyacı, bilgi teknolojisine dayanan ve bu teknolojinin geliştirilmesi ile çok kapsamlı bir çalışma alanına sahip birçok disiplinin bir araya gelmesiyle oluşan bir bilim dalının ortaya çıkışını sağlamıştır. Biyoinformatik çok çeşitli biyolojik bilgilerin erişiminin kolaylaşması, elde dilen bu bilgilerin verimli kullanımını ve yönetimi için gerekli bilgisayar yazılımlarının geliştirilmesini ve bu çalışmalar ile verilerin arasındaki ilişkilerin çeşitli algoritmalar ve biyoistatistiksel yöntemler ile açığa çıkarılmasını kapsamaktadır [2,3]. Biyoinformatik alanında yapılan çalışmalarda, bilişim teknikleri biyolojik veriye uygulanmaktadır. Özellikle büyük ölçekteki biyolojik verilerin analizi için bilgisayar bilimleri ve biyoistatistik gibi disiplinlerin bir araya gelmesinden ortaya çıkan veriler incelenmektedir. Bu alanda yapılan çalışmalarda biyomoleküllerle ilgili çeşitli analiz yöntemlerinin geliştirilmesi ve daha fazla veri kaynaklarının bir araya getirilmesi amaçlanmaktadır [3].

Biyoinformatik alanında yapılmış birçok çalışmada biyomoleküller arasındaki ilişki incelenmiş olup, verilerin analizleri yapılmaktadır. Bu yöntemle elde edilen verilerin hangi tür canlıya ait olduğunun analizleri biyoinformatik temelli programlar sayesinde gerçekleştirilmektedir. Biyoinformatik alanında yapılmış olan çalışmalardaki veriler veri tabanlarına kaydedilmektedir. Bu tez çalışmasında, biyoinformatik temelli programlar kullanılarak INS geninin hem DNA hem de protein açısından analizleri gerçekleştirilmektedir. INS geninin farklı hayvan türlerindeki uyumu incelenerek analiz edilmektedir. Genlerin kendi türleri arasındaki uyum ve korunan gen bölgelerinin dizilimi gösterilmektedir. Genlerin birbirleri ile olan ilişkisi filogenetik ağaç oluşturularak gösterilmektedir.

Tez çalışması kapsamında, Birinci Bölümde, biyoinformatik ve şeker hastalığı ile ilgili tanımlamalar, INS ile yapılan çalışmalar ve tarihçesinden bahsedilmektedir. İkinci Bölümde, kullanılan sistemler, malzeme ve yöntem anlatılmaktadır. Kullanılan biyoinformatik tabanlı programlar açıklanmaktadır. Üçüncü Bölümde, biyoinformatik tabanlı programlardan elde edilen veriler ve analizler açıklanmaktadır. Dördüncü Bölümde, tez çalışması kapsamında bulgular ve tartışmadan bahsedilmektedir. Beşinci Bölümde ise elde edilen sonuçlar ve öneriler bulunmaktadır.

1. GENEL BİLGİLER

Bu bölümde, tez çalışması hakkında genel bilgiler verilmektedir. Biyoinformatik ve şeker hastalığı tanımlamalarından, INS'nin keşfi ve tarihçesinden bahsedilmiştir. Ayrıca INS ile yapılan çalışmalara yer verilmiştir.

1.1. Biyoinformatik Nedir?

Biyoinformatik, biyolojik sistemler ve olaylardan elde edilen verilerin değerlendirilmesiyle tıp bilimleri, bilişim teknolojileri, biyoloji, matematik ve biyoistatistiğin bir araya gelip bir bütün oluşturması sonucu ortaya çıkan ve farklı disiplinlerin bir arada uygulanmasını sağlayan bir bilim dalıdır. İlk olarak biyoinformatik gen dizilerinin incelenmesi ve analizinin gerçekleştirilmesi için geliştirilmiştir. Günümüz şartlarında ise biyoloji, gen çalışmaları ve bunun yanı sıra gen çoğaltma çalışmaları, ilaçların geliştirmesi, hastalıkların tanısının konması ve tedavi işlemleri de dahil birçok olayı geniş bir alanda incelemekte ve analiz etmektedir. Öncelikli amacı biyolojik deneylerden ve gözlemsel çalışmalardan elde edilen verilerin doğru bir şekilde kullanımı, işlenebilir halde saklanması, analizi ve yorumlanmasına olanak sağlamak olan biyoinformatik, bilişim teknolojileri ve biyoistatistik biliminden çokça faydalanmaktadır [4].

1966 yılında Scientific American dergisinde yayımlanan bilgisayarla moleküler grafiklerin çizimine ait makale Biyoinformatik biliminin başlangıcı olarak kabul edilmektedir. Bunun yanı sıra "Biyoinformatik" terimi 1980'li yılların ortalarından sonra kullanılmaya başlanmıştır [4]. Tıp alanındaki araştırmaların ilerlemesi ve yeni yöntemlerin kullanılması ile birçok bilim insanlarında yeni sorular oluşmuştur. Bilim insanları bu sorulara cevap olarak biyoinformatik alanını ortaya çıkmaya başlamıştır. Uzun süredir bilim insanları birçok organizmanın genom dizisini elde etmek için uğraşmaktadır. Dünyada birçok canlı bulunmakta ve bu canlıların gen dizileri uzun çalışmalar sonucunda elde edilmektedir. Yapılan çalışmalar boyunca elde edilen gen dizilerinin bir arada olması amacıyla biyoinformatik bilimi bu çabaların neticesinde ortaya çıkmaktadır [5].

Biyoinformatik biliminin amacı veri tabanı oluşturmaktır. Bu veri tabanına araştırmacılar ulaşmakta ve yapılan çalışmalar sonucunda yeni veriler veri tabanına yüklenmektedir.

Biyoinformatik'in amaçları; hızla ilerlemekte ve artmakta olan bilgiyi toplamak, yönetmek, dağıtmak, bilgiye en çabuk ve kolay biçimde ulaşılmasına olanak vermek, çok karmaşık yapıda olan biyolojik sistemlerin analizini gerçekleştirmektir [6]. Biyoinformatik biyolojik araştırmalara çok yönlülük kazandırmıştır. Bu sayede birçok biyoistatistiksel araştırmalar yapılabilmektedir. Biyoinformatik bilimi sayesinde birçok hastalığın tedavisi ve önlenmesi amaçlanmaktadır.

1.2. Diyabet Hastalığı Nedir?

Glikoz insanların yedikleri yiyeceklerden almış oldukları bir şeker çeşididir. Glikoz insan vücudunda dolaşmakta olan kanın içinde bulunmaktadır. İnsan beyni ve vücudu glikozu enerji için kullanır. Yemeklerden sonra glikoz yediğimiz yiyeceklerden kana karışır. Glikoz öğünler arasında endogen kaynaklardan kullanılır ve karaciğerde bulunan glikojen deposundan salınır. İnsan vücudunda gerçekleşen uzun süren açlık durumunda ise glukoneogenez ile karaciğerde ve böbrekte bulunan aminoasitler ve yağ asitleri glikoza dönüştürülür. Böylelikle insan vücudunda kanda belirli normal düzeyde glikoz bulunması sağlanır [7].

Diabetes Mellitus (Şeker Hastalığı) insülin hormon salgısının veya insülin etkisinin azalması sonucu karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasında bozukluklara sebep olan metabolizma hastalığıdır. Diabetes Mellitus klinik olarak polidipsi, poliüri, polifaji, pruritus, kilo kaybı gibi klasik belirtiler ile tanınabilir. Özellikle insüline bağımlı olmayan diyabet bu belirtileri göstermeyip, kan ve idrar testine göre tanı konur. İnsüline bağımlı olan diyabet hastalığı ise birkaç belirti ile teşhis edilebilir.

Diabetes Mellitusla (DM) hakkındaki bilgilere ilk olarak 3000 yıl öncedeki zamanlarda bahsedilen kaynaklarda görülür. Bu hastalığın çok eski zamanlara dayandığı düşünülmektedir. Diabet kelimesi Yunan dilinde kullanılan diabeinein kelimesinin türetilmesinden oluşmuştur. Anlamı ise insanların çok fazla su içmesi ile idrara çıkmasındaki artış olarak açıklanmaktadır. Latin dilinde bal anlamını ifade eden Melllitus idrarın tatlı olması sebebiyle sonradan eklenmiştir [8].

Diyabetten ilk söz edilme zamanı Mısır'da bulunan M.Ö. 1500 yılında yazıldığı düşünülen Ebers papirüsünde gerçekleştirilmiştir. Eski Hint Uygarlığında, M.Ö 600 yılında "Charak samhira" tıp kitabında diabet ismi üriner hastalıklar listesinde sıralandığından bahsedilmektedir. M.Ö. 150 yıl öncesinde, Kapadokya'da Areteus, ilk defa "diabetes" ismini kullanmıştır [9]. M.S. 9-11. y.y.'ları arasında yaşamış olan İslam hekimi Razi ve İbn-i Sina, diyabet hastalığına sahip olan insanların idrarının tatlılığından ve bu hastaların susama gereksinimlerinden bahsettiğini söylemişlerdir. 18. y.y.'a gelindiğinde ise William Cullen "Diabetes" kelimesinin kullanılmasının ardından tatlı veya ballı anlamını ifade eden "Mellitus" u ilave etmiştir. 1815 tarihinde Chevreul diyabetlilerin idrarında mevcut olan bu şekerin "glikoz" olduğunu ifade etmiştir. 19. y.y.'da Claude-Bernard glikozun karaciğerde glikojen olarak depolandığını açıklamıştır. Paul Langerhans ise 1869'da pankreastaki adacık hücrelerinin açıklamasını yapmıştır. 1889'da Oskar Minkowski yapmış olduğu deneyler sonucunda Diabetes Mellitus ile ilişkili organın pankreas olduğunu kanıtlamıştır [10].

Diabetes Mellitus, yüksek ölüm oranı ve tanı konulan hastaların sayısının artışı ile, tedavi harcamaları ve iş görememezlik nedeniyle hem hastaya hem de topluma büyük yük getirmektedir [11]. Diabetes mellitus dünyada sık görülen, sonuçları önemli olan ve pahalı komplikasyonlara yol açabilen, aynı zamanda da kontrol altına alınabilen bir hastalıktır [12]. Bunun yanı sıra her yaş grubu için önem teşkil etmekte ve kronik hastalıklar arasında yer almaktadır. Dünya Sağlık Örgütü diyabeti, hastalık tanısının giderek artması ve hastalık sonucunun doğuracağı etki nedeniyle önemli bir sağlık sorunu olarak tanımlamaktadır. Türkiye'de 20-80 yaş grubunda diyabet hastası tanısı konulan kişilerin sayısının %7,2 olduğu ve diyabet hastalığının yaş sınırının beş yaş üstü grupta ölüm nedenleri arasında beşinci sırada yer aldığı belirtilmektedir [13,14].

1.3. İnsülin'in Keşfi

İnsülin 600 dalton molekül ağırlığında olan insan vücudunun önemli organlarından olan pankreastaki langerhans adacıklarının beta-hücreleri tarafından üretilen polipeptit yapıda bir hormondur.

İnsülin molekülü 2 aminoasit zincirinden oluşmaktadır. İnsülin molekülünde bulunan bu 2 aminoasit zincirler birbirlerine iki disülfür köprüsüyle bağlanmıştır. İki disülfür

köprüsüyle bağlanmış olan bu hücreler pankreas kütlesinin yaklaşık %1'ini oluştururlar [15].

İnsülin fiziksel ve kimyasal tüm dengelerin yerinde olduğu dinginlik durumu olan homeostazi sağlayan glikozun depolanmasında ve insan vücudunun enerjisi için önemli bir düzenleyicidir [16]. Tablo 1.1'de İnsülin'in keşfi açıklanmıştır.

Tablo 1.1. İnsülin'in keşfi [17]

1921 İnsülinin keşfi, Toronto Üniversitesi, Banting, Best, Collip, Macleod. (1923 Nobel Ödülü)
1922 İnsülin ilk defa insanda kullanıldı. Toronto Üniversitesi.
1925 Internasyonel İnsülin Ünitesi saptandı. 1 ünite=0.125 mg standart madde)
1926 Kristalize insülin elde edildi. Abel.
1936 İnsüline çinko eklenerek protamin zinc insülin elde edildi. Scott.
1951 Çinko insülinin asetat tamponu ile lente insülin geliştirildi. Novo.
1955 İnsülinin moleküler yapısı anlaşıldı. Sanger.
1960 Radyoimmunoassay geliştirildi. Berson Yallow.
1967 Proinsülin geliştirildi. Steiner.
1971 İnsülin reseptörleri bulundu.
1977 İnsülin geni klonlandı. Ulrich.
1978 Saflaştırılmış domuz insülini elde edildi. Eli Lilly.
1981 İnsülin reseptörünün kinaz aktivitesi tarif edildi. Kassaga.
1982 Rekombinant DNA teknolojisi ile insan insülini olan Humulin üretildi. Eli Lilly.
1982 Domuz insülinin insan insülinine enzimatik dönüşümü sağlandı.
1993 İnsülin lispro elde edildi. Jaccobs. Eli Lilly.
1995 İnsülin lispro aminoasitlerinde yapılan değişiklik ile insan insülin analoğu elde edildi. Ciszak. Eli Lilly.

İnsülin insan vücudunun metabolizmasının düzenleyici temel hormonlarından biridir. İnsülinin keşfi için çok uzun zamandır süregelen araştırmalar bulunmaktadır. Bu araştırmaların sebebi insülin eksikliğinde veya fazlalığında ortaya çıkan hastalıklardır. İnsülin direnci, bu hastalığın kaynağı ve gelişmesi esnasında organizmada birçok

değişikliklere sebep olmaktadır. İnsülin direncinin patogenezi çok geniş kapsamlı meydana geldiği için tam olarak aydınlatılamamıştır ve araştırılmaktadır. Obezite ile insülin direnci arasındaki ilişki çok güçlü bir şekilde meydana gelmiştir. İnsülin direncinde gösterilen öncelikli sebep obezitedir. İnsan vücudunda insülin direnci oluşmaya başladığı zaman hemen klinik belirti vermeyebilir [17].

Bir polipeptit hormon olan insülin 1921'de Banting tarafından keşfedilmiştir. Bir yıl sonra 1923'te Nobel Ödülünü almıştır [18]. İnsülin, ara metabolizmayı kontrol etmekte olan ana bir hormondur. İnsülinde en çok belirgin olan akut etki kan şekerini düşürmektir. Kan şekerini kontrol etmenin ana faktörü insülinin sentezi ve salgılanmasıdır [19].

İnsülin pankreasta Langerhans adacıklarının beta hücreleri tarafından sentezlenir [20]. 1955 yılında, insülin birincil aminoasitine sahip ilk sekans belirlenmiştir.[21] Birkaç yıl sonra, üçüncül yapısının X-ışını kristalografisi ile saptanması sağlanmıştır [22,23]. 1975'e gelindiğinde, bilim adamları ve hagfish dahil insülini tüm omurgalı sınıflarında sıralamıştır [24]. İnsülin hem omurgalılarda hem de omurgasızlarda bulunmaktadır [25].

1.4. İnsülin'in Tarihi

Diyabetin en erken açıklaması MÖ 552 civarında, Mısır'da Ebers Papirüs yazılı tıbbi metin koleksiyonunda ortaya çıkmıştır [26,27]. Anadolu'da ise Kapadokyalı hekim Aretaeus tarafından diyabet ismi ilk kez kullanılmıştır [27,28]. 1921 yıllarında diyabete neden olan INS keşfedilmiştir. 1958 yılına gelindiğinde ise Frederick Sanger insülinin yapısını bularak açıklamıştır. İnsülinin yapısı keşfedildikten sonra insülin ile yapılan çalışmalar artmış ve günümüzde hala bu çalışmalar devam etmektedir.

1.5. INS ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Günümüzde INS ile yapılan birçok çalışma bulunmaktadır. Maoxian He ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada [29] İnsülin reseptör ailesinin filogenetik analizi yapılmıştır. Filogenetik ağaç, biyoinformatik temelli program MEGA 4.0.2 tarafından 1000 bootstrap replikası ile komşu birleştirme yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada, Pfirr'in tüm insülin reseptörlerinin tipik özellikleri;

gelişim aşamalarında Pfirr'in doku dağılımı ve ekspresyon profilleri, onun geniş dağılımını göstermektedir ve embriyonik aşamalardaki gelişimde önemli rol larva aşaması; Pfirr mRNA'ların farklı gelişimsel ekspresyonları IGF-I ve antagonist PQ401 ile tedaviyi takip eden aşamalar, Pfirr'in gelişiminin düzenlenmesinde rol oynayabileceği gösterilmiştir [29].

Chakraborty ve arkadaşlarının yapmış olduğu bu çalışmada ise hesaplamalı biyoloji kullanılarak insülinin filogenetiği tasvir edilmiştir. Ayrıca insülinin hem A zinciri hem de B zinciri için üç grupta, yani memeli grubu, omurgalı grubu ve balık grubu için analizleri gerçekleştirilmiştir. Çalışmadaki sonuçlara göre 12 aminoasit kalıntısının (GlyA1, IleA2, ValA3, TyrA19, CysA20, AsnA21, LeuB6, GlyB8, LeuB11, ValB12, GlyB23 ve PheB24) yüksek oranda korunduğu ispatlanmıştır. Bu çalışma, aminoasit sekanslarını hesaplamak için çeşitli biyoinformatik temelli yöntemler kullanılmıştır. Gelecekte araştırmacılar bu konuda gösterilen analitik yaklaşımı benimsemeyerek yapısal ve fonksiyonel konularla ilgili daha ayrıntılı araştırma yapmak için diğer organizmaların filogenetikleri ile ilgili çalışmalar yapmak için biyoinformatik temelli yöntemler kullanacaktır [30].

Chakraborty ve arkadaşlarının yapmış olduğu diğer bir çalışmada ise İnsülinin sinyal yolundaki Fosfoinositid 3-kinaz (PI3K) proteinlerinin profili incelenmiştir. Fosfoinositid 3-kinaz (PI3K) proteinlerinin enzimi, insülin sinyallemesinde hayati bir rol oynamaktadır. İnsülin sinyal yolunda, p50a, p85a, p85β, p55γ içeren PI3K proteinleri, p110a, p110β ve p110γ, kritik düğümler ile ilişkilidir. Bu çalışmada filogenetiği, korunma örüntülerini, kalıntıların yönlendirilmesi ve PI3K proteinleri arasındaki etkileşimleri korunmuş alanları anlamak için biyoinformatik araçlar kullanılmıştır. Bilgisayar biliminin ilerlemesi ile proteinler arasındaki ilişki üzerine çalışmalar sinyal yollarındaki düğümlerle ilişkili yapılabilmektedir. PI3K familyası ile proteinleri arasındaki ilişki ve insülin sinyali ile nasıl ilişkili oldukları bu yöntemlerle gösterilmiştir [31].

Miguel E. Renteria ve arkadaşlarının çalışmalarında İnsülin reseptörü (IR), insülin benzeri büyüme faktörü 1 reseptörü (IGF1R) ve insülin reseptörü ile ilişkili reseptör (IRR) ilişkisi incelenmiştir. IR ailesinin filogenisini yeniden yapılandırmak için bir aminoasit kalıntısı koruma analizi yapmışlardır. Bu çalışmada IR ve IGF1R'nin protein

yüzeyi aminoasit kalıntısı korumasına etki eden farklı saflaştırma seçimi derecelerini ortaya çıkarmıştır. Son olarak, yapılan çalışmada fonksiyonel önemi olan bölgelerde aminoasit dizisi evrimsel koruma oranları sağlayabilmektedir. Kristal yapılar mevcut olduğunda homolog dizilerin ortolog kümelere doğru sınıflandırılması yapılmıştır [32].

Buel D. Rodgers ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF) aktivitesi, altı yüksek afiniteli bağlanma proteini (IGFBP) ve IGFBP ile ilişkili proteinler (IGFBP-rP'ler) tarafından düzenlenmesi incelenmiştir. Önerilen bu gen süper ailesinin filogenetik ilişkisini belirlemek için maksimum omurgalı türlerinin çeşitliliğinden gelen aminoasit dizilerinin bir matrisi üzerinde olabilirlik (ML) ve Bayesci çıkarım analizleri yapılmıştır [33].

Shrilakshmi S. ve arkadaşlarının yapmış olduğu bu çalışmada, filogenetik analizden kaynaklanan sekans koruma/varyasyon analizleri, fonksiyonel ve yapısal çalışmalardan elde edilen bilgiler, benzeri görülmemiş veriler sunmaktadır. Örnek olarak, çalışmada sunulan IGF'lerin beklenmedik derecede yüksek evrimsel korunmasının mantığı, IGF'lerin işlevini, IGFBP'ler tarafından düzenlenmelerini ve IGF'lerin IGFBP'ler ve IGF-1R ile etkileşim tarzını deşifre eden yapısal bilgileri gösterilmiştir. Birden fazla disiplinin bir araya gelmesinden oluşan bilginin analizi, bu filogenetik aile hakkında bilgi vermektedir. İnsülin ailesi proteinlerinin tek bir ata geninden geliştiği bilinmektedir ve protein dünyasının bu Lilliputian'ları, şeker metabolizması, büyüme ve üreme dahil olmak üzere daha yüksek organizmalarda birçok fizyolojik sürecin düzenleyicisidir [34].

Sinan BOYLUOĞLU'nun yapmış olduğu bu çalışmada ise domuz insülininin saflaştırılması, klinik avantajları, sentetik insülinler ve saf domuz insülini ile eşdeğer oldukları hakkında bilgiler derlenmiştir [35]. Geçmiş yıllarda yapılmış olan çalışmalara bakıldığında insülin geni domuz geninden elde edilmiştir şeklinde bilgiler mevcuttur.

Geçmişten günümüze insülin geni ile birçok çalışma yapılmıştır. Günümüzde insülin geni ile biyoinformatik temelli çalışmalar yapılarak birçok veri elde edilmektedir. Canlı türü tayini ve filogenetik analiz ile korunmuş genlerin tespiti için insülin geni birçok makalede kullanılmıştır.

2. MALZEME VE YÖNTEM

Bu bölümde, çalışmada kullanılan biyoinformatik temelli programlar hakkında bilgi verilmektedir. Sonrasında filogenetik analiz çalışmaları ve MEGA uygulaması anlatılmaktadır. Son olarak biyoistatistiksel görüntülerin elde edilmesi ve işlenmesi hakkında bilgi verilmektedir.

2.1. Kullanılan Sistemler

Bu bölümde, biyoistatistiksel analizde kullanılan program ve analiz yöntemleri hakkında bilgi verilmektedir.

2.1.1. DNA dizi analizi

Genetik veri canlının, DNA özelliklerinin kalıtsal ve kalıtsal olmayan ifadeleridir. Bu özellikleri inceleme yöntemleri günümüzde sekanslama teknolojisi ile gerçekleşmektedir. Sekanslama, bir genomu oluşturan nükleotidlerin (A, T, C, G, U) sırası ile belirlenip gösterilmesidir.

2.1.2. Ensembl

Ensembl bir genom tarayıcısıdır. Ensembl, genleri açıklar, çoklu hizalamaları hesaplar, düzenleyici işlevi ve hastalık verilerini toplar. Ensembl araçları, desteklenen tüm türler için BLAST, Temel Yerel Hizalama Arama Aracı), BLAT, BioMart ve Varyant Effect Predictor (VEP) içerir. Ensembl projesi omurgalılar ve diğer ökaryotik türler için genom veri tabanları üretmekte ve bu bilgileri çevrimiçi ve ücretsiz olarak kullanıma sunmaktadır.

2.1.3. BLAST

BLAST (Basic Local Alignment Search Tool); Temel Yerel Hizalama Arama Aracı, diziler arasındaki yerel benzerlik bölgelerini bulur. Program, nükleotid veya protein dizilerini dizi veri tabanlarıyla karşılaştırır ve eşleşmelerin istatistiksel önemini hesaplar. BLAST, diziler arasındaki fonksiyonel ve evrimsel ilişkileri ortaya çıkarmak

ve gen ailelerinin üyelerinin belirlenmesine yardımcı olmak için kullanılabilir. BLAST (Basic Local Alingment Search Tool), istenilen dizi sırasını (nükleotid veya aminoasit) veri tabanından çekip bulan, mikroorganizmalara ait baz dizileri ile eşleştirme yaparak istenilen dizi sırası ile aynı veya ona en yakın olan dizi sırasına ait olduğu mikroorganizmayı % benzerlikle veren biyoinformatik temelli bir programdır. BLAST, 1988 yılında kurulmuş olan National Center for Biotechnological Information tarafından oluşturulmuş bir programdır. BLAST'ın amacı moleküler biyoloji ile ilgili bilgileri bir kaynakta toplamak ve genom verilerinin bilgisayar ortamında analiz edilmesini sağlamaktır. Dizi analizi yapıldıktan sonra aranan bölgenin baz dizisi belirlenip; tarama sonucu, aranan dizi sırasının hangi mikroorganizmaya ait olabileceği; benzerlik yüzdesi ile verilir. BLASTN bir nükleotid dizisi ile komplementer diziyi hızlı bir şekilde yüksek duyarlılık aramadan ele alarak nükleotid dizisi veri tabanlarıyla karşılaştırır. BLASTN ve BALSTX; EST verilerinin analizi, ekson yakalama yöntemi ve genomik dizi örneklemlerinin incelenmesinde kullanır [36].

2.1.4. NCBI

Biyoinformatik uygulamalı bir bilimdir. Biyoinformatik temelli uygulamalar ile modern moleküler biyoloji, tıbbi biyoloji ve genetik bilgi arşivlerinden faydalanılarak önemli biyoistatistiksel tahminler yapılmaktadır. Biyoinformatik temelli uygulamalar sayesinde gen dizileri veri tabanlarından elde edilebilmekte ve böylelikle bu alanda birçok çalışma gerçekleştirilmektedir. The National Center of Biotechnology Information (NCBI), biyoinformatiği; Biyoloji, Tıp, Biyokimya gibi yaşam bilimleri, bilişim teknolojileri ile matematiksel istatistiğe dayalı interdisipliner bir bilim dalı olarak ifade etmektedir. Biyoinformatik ile bilim adamlarının incelemiş olduğu aminoasit ve nükleotit dizileri için bir veri tabanı oluşturulmuştur. Bu veri tabanı uluslararası olup tüm dünyada bu genler için oluşturulmuş olan veri bankasına bilim insanları istenilen veriyi sisteme yükleyip, istenilen veriyi sistemden çekerek üzerinde çalışmalar yapabilmektedir [37]. Aynı zamanda bilim insanları bu platformda yaptıkları çalışmaları yayınlamaktadır. Amerikan Ulusal Kütüphanesinin bir parçası olarak oluşturulmuş NCBI; yerel veri tabanları, bilgisayar destekli araştırmalar, dizi analizi yapan yazılımlara odaklanmış bir kuruluştur.

2.1.5. ClustalW

ClustalW; bir çoklu dizi hizalayıcı bilgisayar yazılımıdır. Genellikle DNA/Protein dizilerini birbirine hizalamak ve kıyaslamak için kullanılır. Bu algoritma ile filojeni (soy oluşum) ağaçları da oluşturulabilir. CLUSTALW, çevrimiçi olarak dizileri hem DNA hem protein olarak istenilen formatta hizalama yapabilmektedir. Bu çoklu dizi hizalayıcısında işlem yapabilmek için verilerin FASTA formatında kaydedilmesi gerekmektedir. ClustalW C dilinde yazılmış olup, kademeli hizalama yöntemi ile logaritmik hesaplamalar yaparak dizilerin kıyaslama işlemlerini gerçekleştirmektedir.

2.1.6. Maksimum likelihood metodu (ML)

Maksimum Likelihood; 1981 yılında Joseph Felsenstein'in Maksimum Parsimony MP'den sonra ortaya çıkardığı bir yöntemdir [38]. Maksimum Likelihood yöntemi birçok muhtemel ağaç içerisinden en iyi ağacı seçmek için istatistiksel testler kullanabilme seçeneği sunmaktadır. Bu nedenle, Maksimum Likelihood yöntemi, olası ihtimalleri hesaplayarak her ağaç topolojisini ayrı ayrı değerlendirir veya gözlenen verilerin oluşturulması olabilirliğini hesaplar [39].

2.1.7. MEGA

MEGA ilk kez 1990'ların başında MS DOS için geliştirilmiştir [40]. Moleküler Evrimsel Genetik Analizi (MEGA), dizi hizalamalarının birleştirilmesi, evrim ağaçlarının çıkarılması, genetik mesafelerin ve çeşitlerinin tahmin edilmesi, ataların sıralarının çıkarılması, zaman çizelgelerinin hesaplanması ve seçimin test edilmesi için geniş bir program repertuarını içerir [41]. MEGA X şimdi, birçok araştırmacının Windows, Linux ve MacOS ortamlarında yüksek verim ve yinelemeli analiz için kullandığı MEGA CC' de kullanıcının istediği analiz için analiz seçeneklerini belirten bir yapılandırma dosyası oluşturmaktadır [42]. MEGA programında +G(gamma değeri) kullanılmaktadır. Bu değer Tamura-Nei modelindeki hesaplamaların sonucunda oluşan nükleotidlerin farklılıklarının oranıdır.

INS geni ile yapılan çalışmalarda MEGA programları kullanılmıştır. Günümüzde şu anda en son çıkan sürümü MEGA X programı işlem basamakları aşağıda maddeler halinde sırasıyla verilmektedir.

1- Öncelikle veri tabanından alınan INS geni gen dizisi hem nükleotit olarak hem de aminoasit dizisi olarak FASTA formatında kaydedilir.

Not defterini MEGA X programında açabilmek için Dosya → Farklı Kaydet kısmından ".FASTA" uzantısı ile kaydedilir.

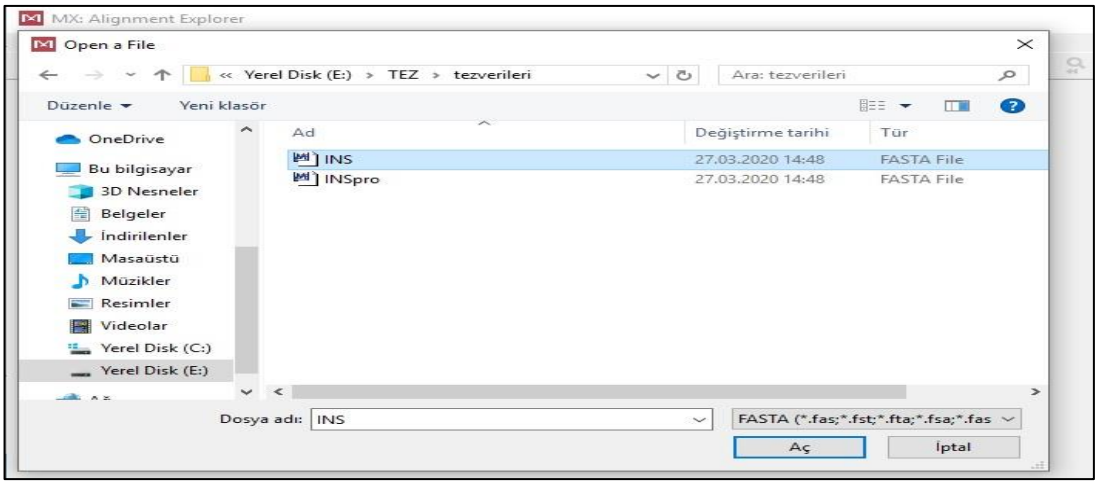
2- MEGA X programı açılır. Ardından Şekil 2.1'de görüldüğü gibi Align → Edit Build Alignment' sekmesi seçilir.



Şekil 2.1. Düzenleme ve hizalama oluşturma

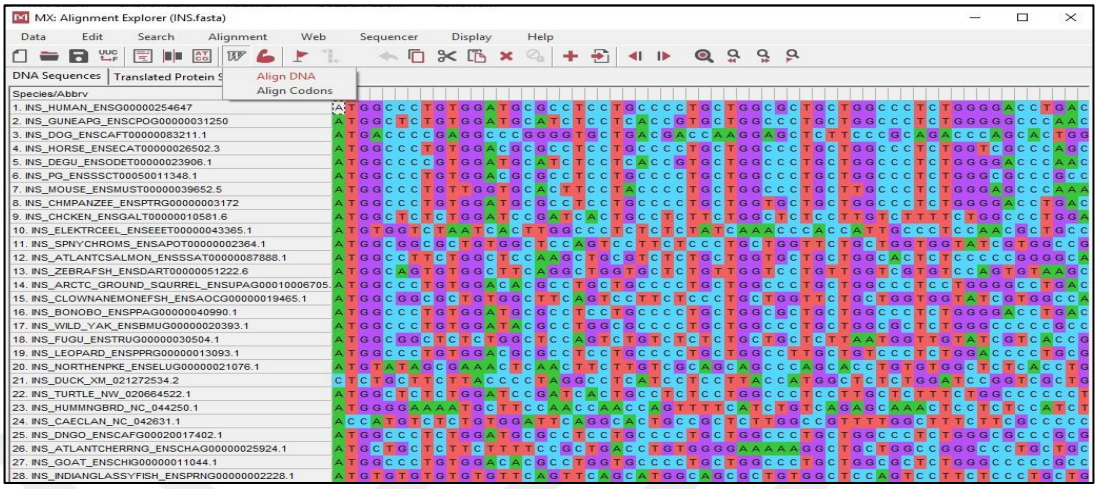
3- Açılan pencereden "Retrieve sequence from a file" seçilir "Tamam" seçeneğine tıklanır. FASTA formatı şeklinde kaydedilen dosyayı seçip "Aç" sekmesi tıklanır.

Daha önce kaydedilen FASTA dizileri Şekil 2.2'deki gibi açılır.



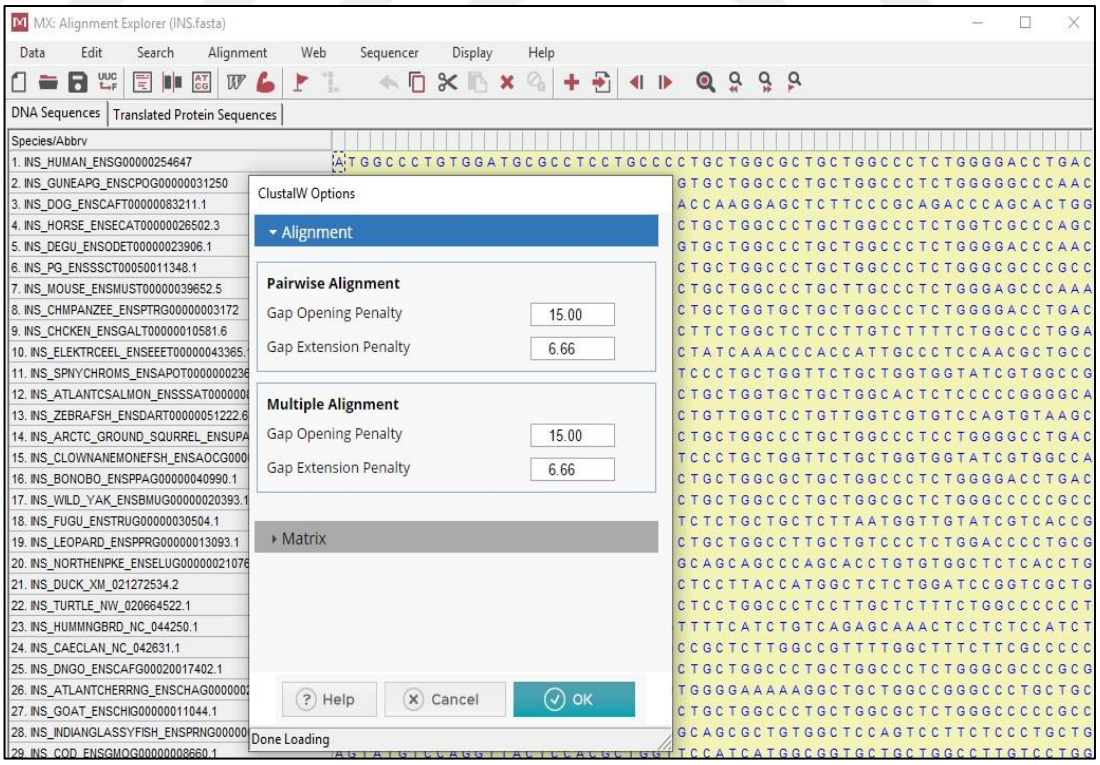
Şekil 2.2. FASTA formatı

4- Sonraki aşamada Şekil 2.3'te görüldüğü gibi "W" aracından "Align DNA" sekmesine tıklanır.



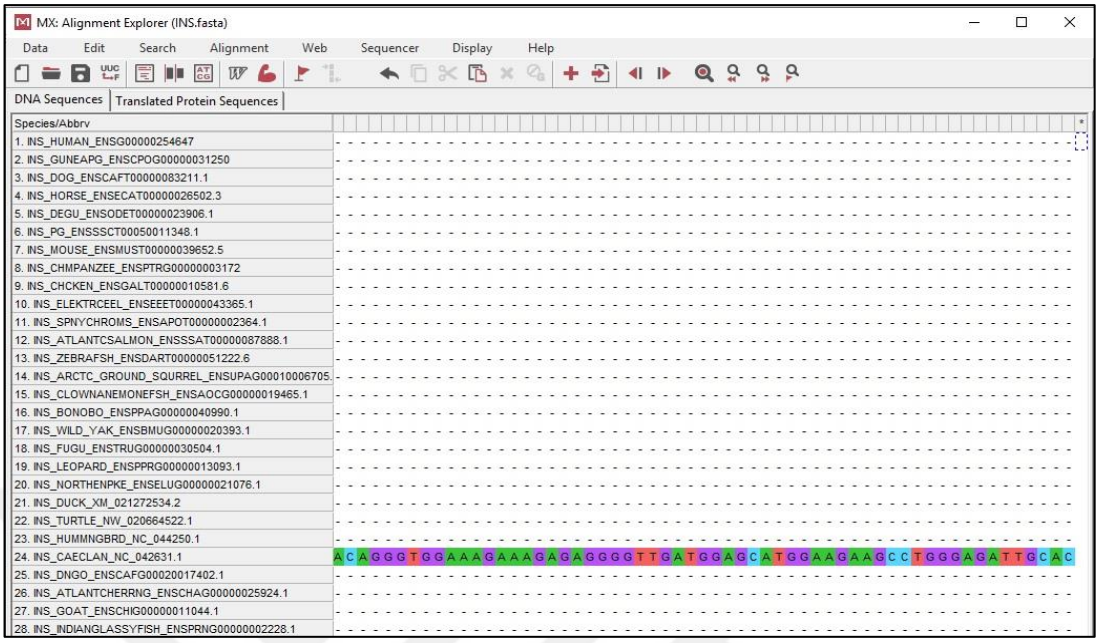
Şekil 2.3. DNA hizalama

5- Açılan pencerede "OK" sekmesi seçilir ardından yeni açılan Şekil 2.4'te görüldüğü gibi "ClustalW Options" penceresinde bir değişiklik yapılmadan "OK" sekmesine tıklanır.



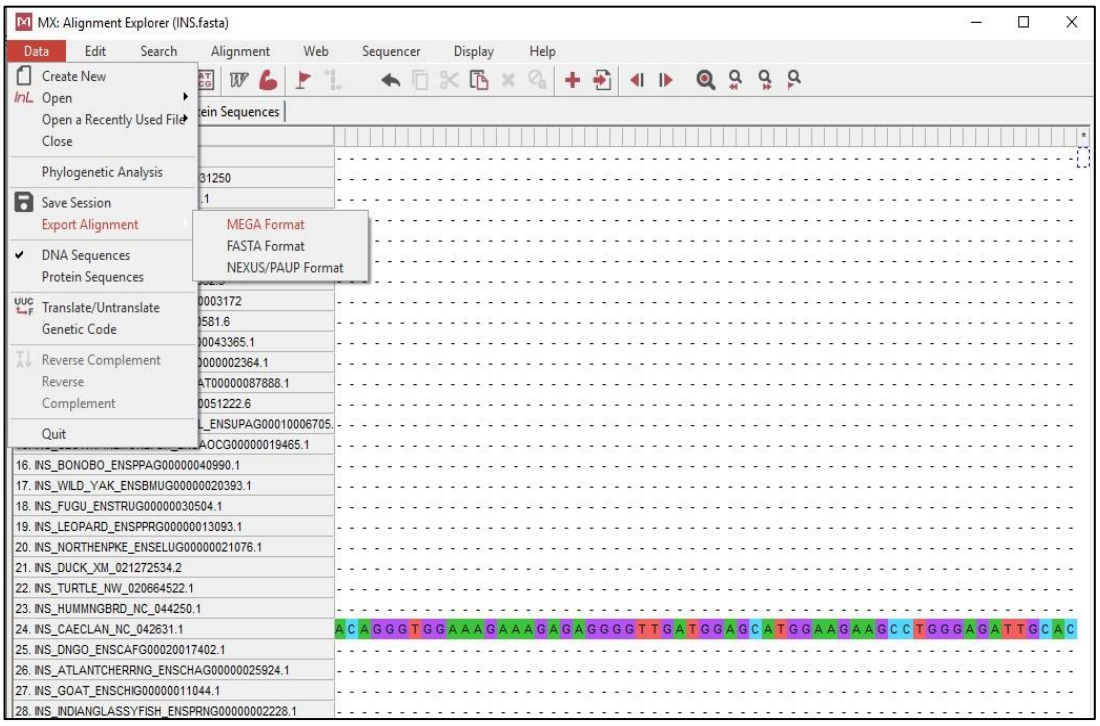
Şekil 2.4. ClustalW ayarları

6- Bu aşamada Şekil 2.5'te görüldüğü gibi Hizalama (Align) işlemleri gerçekleşir.



Şekil 2.5. Dizi hizalama

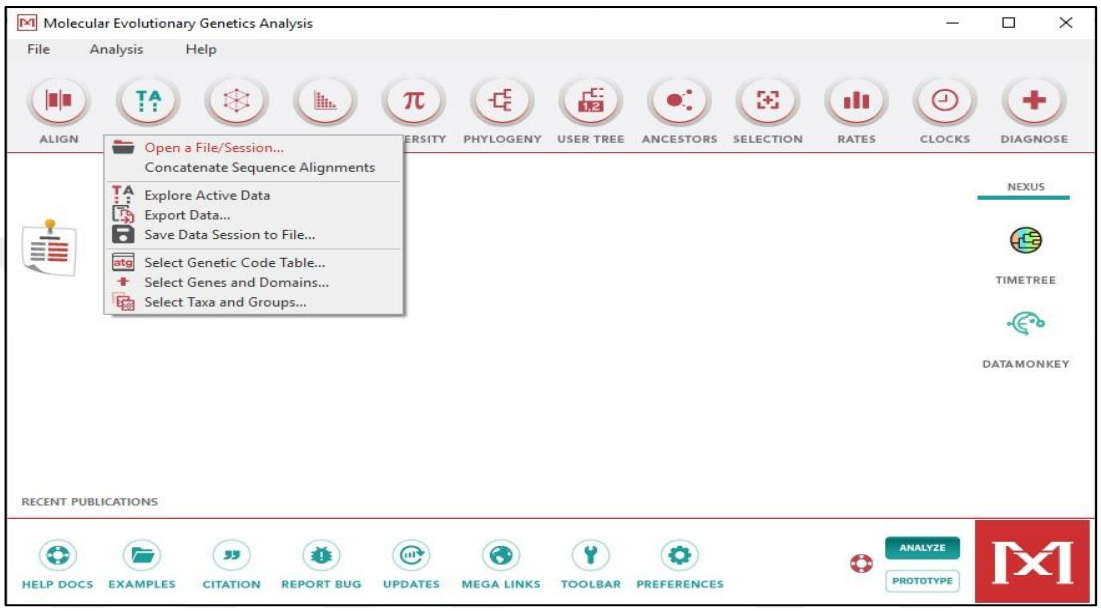
7- Hizalama işlemlerinden sonra Şekil 2.6'da görüldüğü gibi Data → Export Alignment → Mega Format seçenekleri seçilir.



Şekil 2.6. MEGA formatı

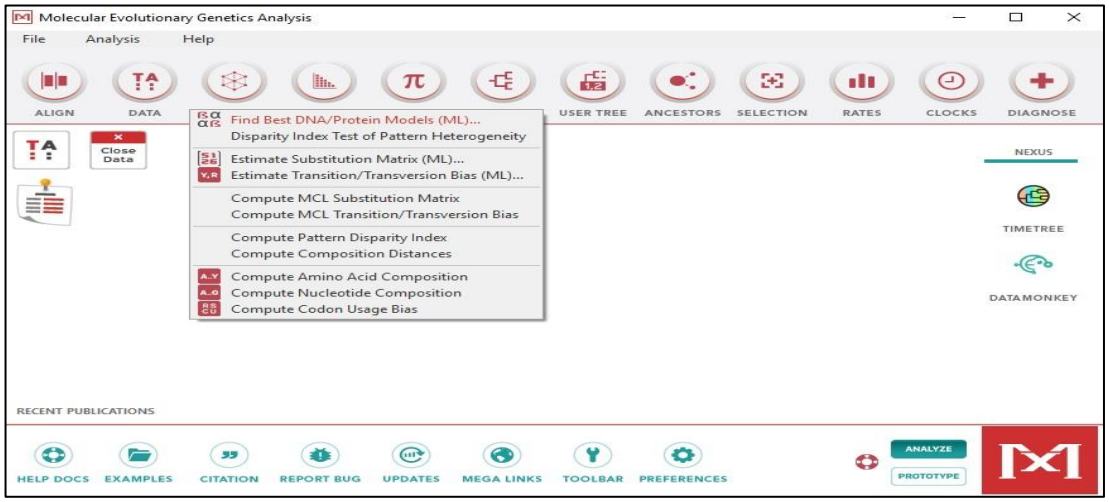
8- MEGA formatı şeklinde Kaydet denilir ve ardından açılan “TITLE” penceresindeki kutucuk boş bırakılarak “OK” sekmesi seçilir. Yeni açılan pencereden “No” seçilir ve işlem tamamlanır. Hizalanılan sekanslar MEGA formatında kaydedilmiş olur.

9- Bu aşamadaki işlem Şekil 2.7’de görüldüğü gibi Data → “Open A File” tıklanarak MEGA formatındaki dosyasının açılması ile gerçekleşmiş olur.



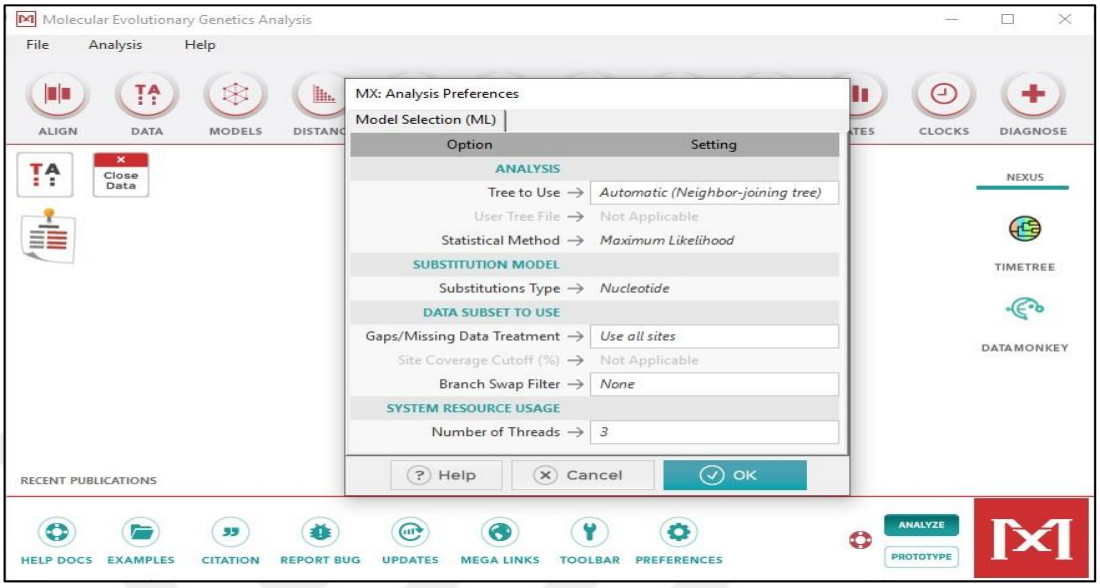
Şekil 2.7. Dosyanın açılması

10- Models sekmesinden “Find Best DNA/Protein Models(ML)” seçilir. Ardından ekrana Şekil 2.8’de görüldüğü gibi gelen pencereden “Yes” seçeneği seçilir.



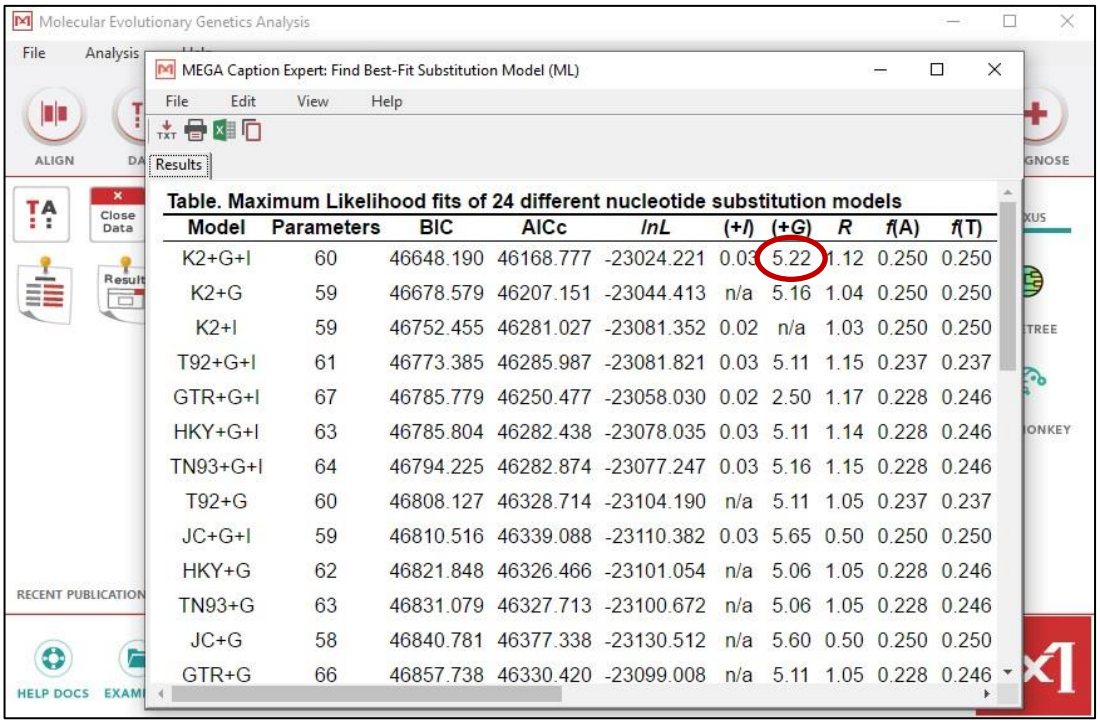
Şekil 2.8. DNA ve protein modelleri seçimi

11- Yeni açılan Şekil 2.9'da görüldüğü gibi "Analysis Preferences" penceresinde "OK" seçeneği seçilir.



Şekil 2.9. Analiz tercihleri

12- Açılan pencereden Şekil 2.10'da görüldüğü gibi (+G) değeri (5,22) bir yere not alınır.



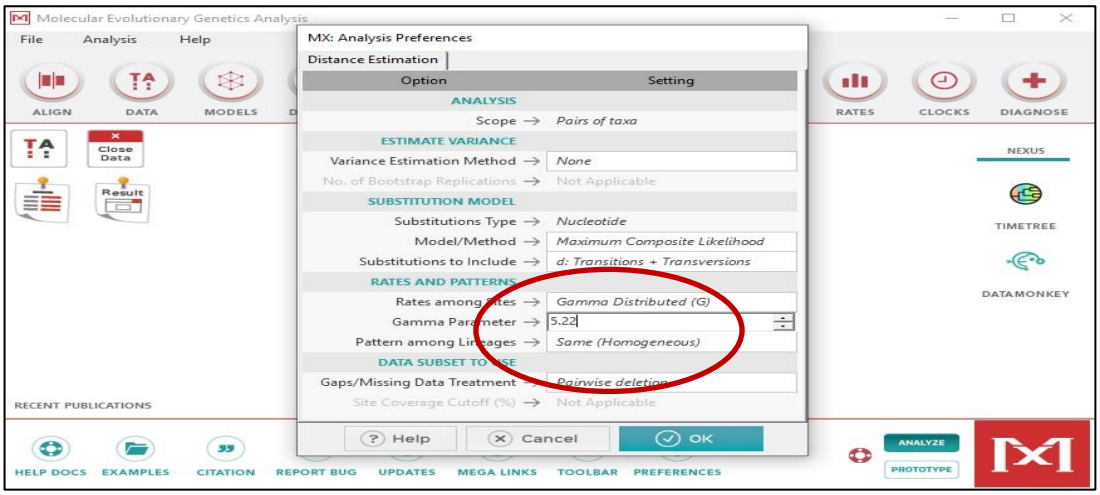
Şekil 2.10. MEGA gama değeri

13- Distance sekmesinden “Compute Pairwise Distances” seçilir. Açılan pencereden “Yes” seçeneği seçilir. “Yes” seçeneği seçilmesinin ardından açılan pencereden Şekil 2.11’de görüldüğü gibi Ratesamong Sites → Gamma Distributed(G) seçilir ve gama parameter kısmı aktif edilir.



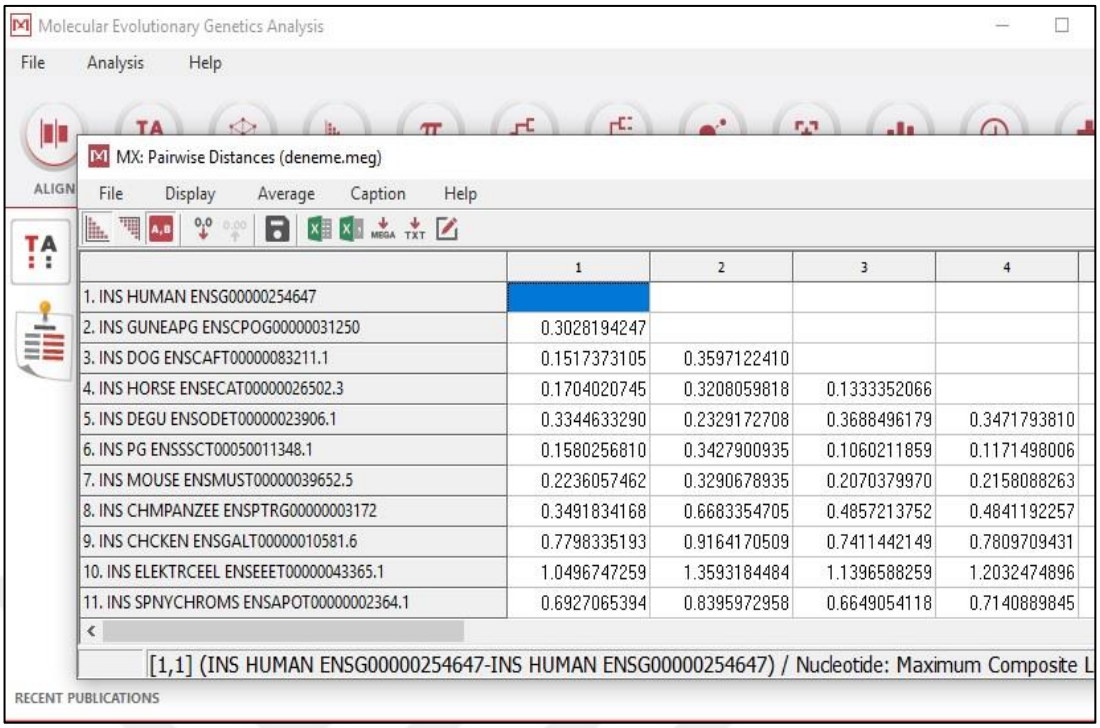
Şekil 2.11. Mesafe hesaplama

14- Daha önceden not alınan gama değeri Şekil 2.12’de görüldüğü gibi “Gama Parameter” kutucuğuna yazılır.



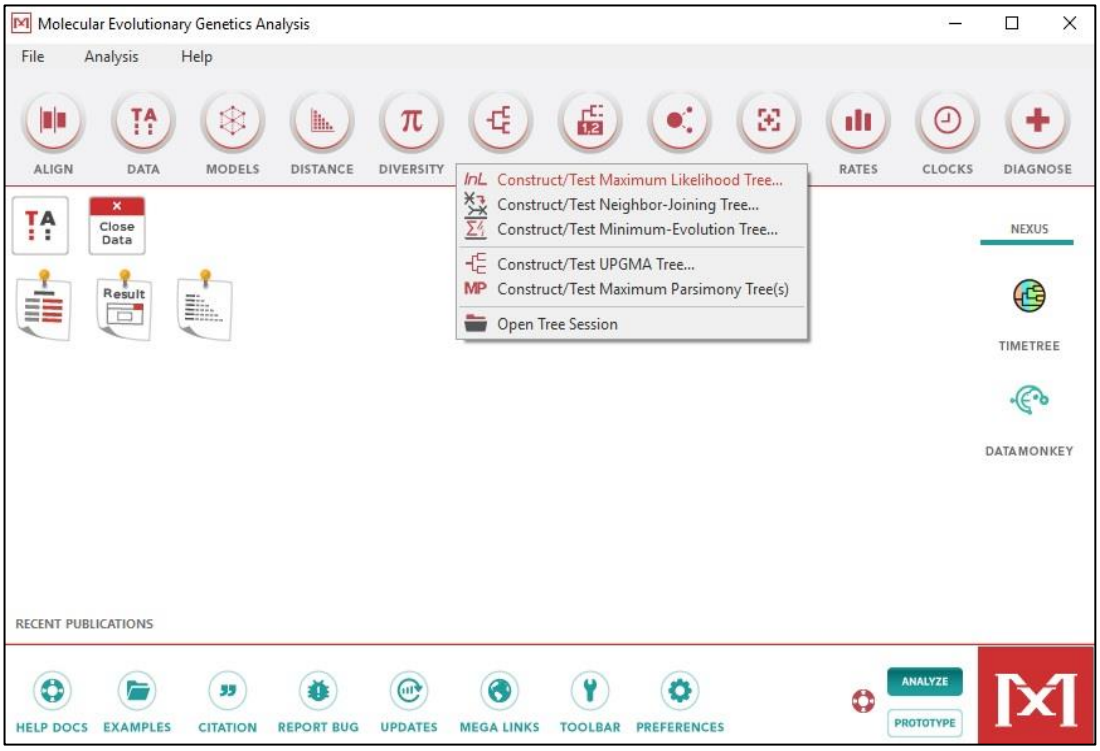
Şekil 2.12. Gamma parametresi

15- Ekrana MEGA X programında girilen gamma değeri ile gerçekleştirilen diziler arasındaki mesafe değerleri gelir. Bu değerler canlıların birbirleri ile uzaklık ilişkisini Şekil 2.13’te görüldüğü gibi gösteren mesafe değerleri şeklinde ifade edilmektedir.



Şekil 2.13. Mesafe değerleri

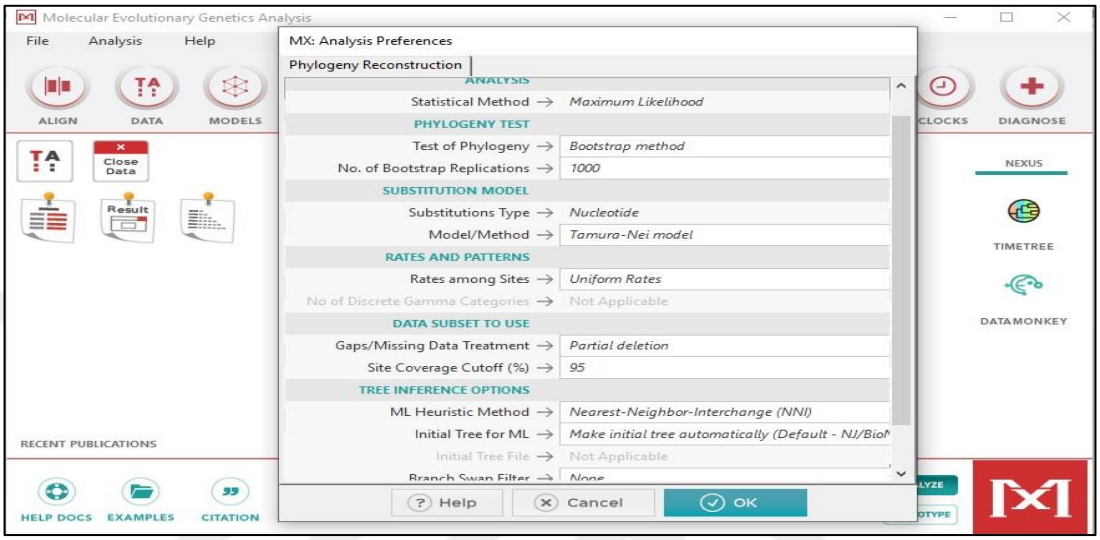
16- Şekil 2.14'te görüldüğü gibi Phylogeny sekmesinden "Maximum Likelihood Tree" seçilir. Açılan pencereden "Yes" seçeneği seçilir.



Şekil 2.14. Maksimum olabilirlik ağacı

17- Yes seçeneği seçilir ve ardından Şekil 2.15'te görüldüğü gibi açılan pencereden "Gaps/Missing Data Treatment" kısmından "Partial deletion" seçilir.

"Test Of Phylogeny" kısmından da "Bootstrap Method" seçilir. Bootstrap Method 1000 olarak ayarlanır ve "OK" seçeneği seçilir.



Şekil 2.15. Analiz ayarları

Tüm işlem basamakları MEGA X programı kullanılarak gerçekleştirilir ve istenilen gen dizileri ile flogenetik ağaç elde edilir. INS genine ait işlemler biyoinformatik verileri elde etmek için bu şekilde işlem basamakları ile filogenetik ağaç oluşturma işlemi gerçekleştirilmiştir.

2.1.8. FASTA

DNA ve protein sekansları için evrensel yazı formatıdır. Nükleotid ya da protein dizisi içeren bir metin dosyasıdır. ">" işareti ile başlayıp tek satırlık tanımlamadan sonra sekans bilgileri ile devam eder. FASTA formatı ClustalW, MEGA gibi biyoinformatik temelli programlarda kullanılır.

3. FİLOGENETİK ANALİZ SONUÇLARI

Bu bölümde, FASTA formatının hazırlanması, MEGA programı uygulaması ve uygulama sonrasında elde edilen görüntülerin aşamaları anlatılmaktadır. Bu aşamalar gen dizisi için ayrı protein dizisi için ayrı başlıklar halinde anlatılmaktadır. Gen dizisi için elde edilen veriler ile protein dizileri için elde edilen veriler erişim numaraları ile birlikte tablolar halinde gösterilmektedir.

3.1. Gen Dizisi FASTA Formatının Hazırlanması

Ensembl veri tabanından insanda bulunan INS genine ait baz dizisi elde edilmiştir. Elde edilen Human INS (ENSG00000254647) geninin baz dizisi Şekil 3.1'de gösterilmiştir. Şekil 3.1'de gösterilmiş olan INS geni baz dizisi FASTA formatında kaydedilmiştir.



Şekil 3.1. İnsan INS geni baz dizisi

Ensembl veri tabanından elde edilen INS geni baz dizisi BLAST programına gönderilerek benzer baz dizisine sahip olan diğer canlılar görüntülenmiştir. Çalışmada kullanılan canlı türleri ve sınıfları erişim numaraları ile birlikte kaydedilmiştir. Tespit edilen canlılara ait INS geni baz dizisi Ensembl ve NCBI veri tabanlarından elde edilip FASTA formatı şeklinde kaydedilmiştir. Bu çalışmada kullanılan canlı türleri, sınıfları ve canlıların erişim numaraları Tablo 3.1'de listelenmiştir.

Tablo 3.1. Canlıların DNA dizilerinin erişim numaraları

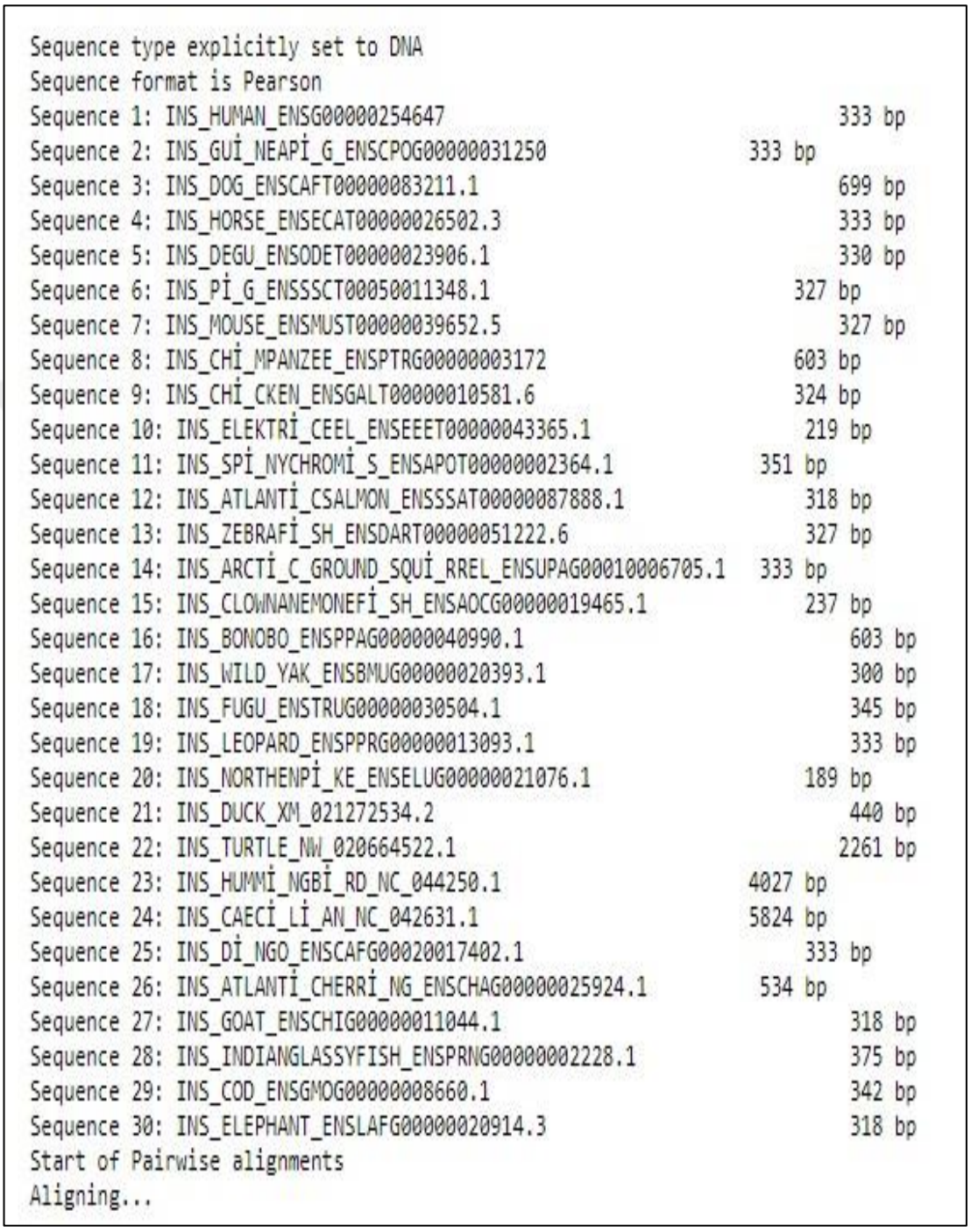
Numara	Sınıf	İsmi	Erişim Numarası
1	Memeliler	Human	ENSG00000254647
2	Memeliler	Guineapig	ENSCPOG00000031250
3	Memeliler	Dog	ENSCAFT00000083211.1
4	Memeliler	Horse	ENSECAT00000026502.3
5	Memeliler	Degu	ENSODET00000023906.1
6	Memeliler	Pig	ENSSSCT00050011348.1
7	Memeliler	Mouse	ENSMUST00000039652.5
8	Memeliler	Chimpanzee	ENSPTRG00000003172
9	Memeliler	Arctic Ground Squirrel	ENSUPAG00010006705.1
10	Memeliler	Bonobo	ENSPPAG00000040990.1
11	Memeliler	Wild Yak	ENSBMUG00000020393.1
12	Memeliler	Leopard	ENSPPRG00000013093.1
13	Memeliler	Dingo	ENSCAFG00020017402.1
14	Memeliler	Fil	ENSLAFG00000020914.3
15	Memeliler	Goat	ENSCHIG00000011044.1
Numara	**Sınıf**	**İsmi**	**Erişim Numarası**
1	Kuş	Chicken	ENSGALT00000010581.6
2	Sürüngen	Caecilian	NC_042631.1
3	Kuş	Duck	XM_021272534.2

Tablo 3.1. (Devam) Canlıların DNA dizilerinin erişim numaraları

4	Sürüngen	Turtle	NW_020664522.1
5	Kuş	Hummingbird	NC_044250.1
Numara	**Sınıf**	**İsmi**	**Erişim Numarası**
1	Balık	Spinychromis	ENSAPOT00000002364.1
2	Balık	Atlanticsalmon	ENSSSAT00000087888.1
3	Balık	Zebrafısh	ENSDART00000051222.6
4	Balık	Clownanemonefish	ENSAOCG00000019465.1
5	Balık	Fugu	ENSTRUG00000030504.1
6	Balık	Atlanticcherring	ENSCHAG00000025924.1
7	Balık	Indıanglassyfısh	ENSPRNG00000002228.1
8	Balık	Elektriceel	ENSEEET00000043365.1
9	Balık	Northernpıke	ENSELUG00000021076.1
10	Balık	Cod	ENSGMOG00000008660.1

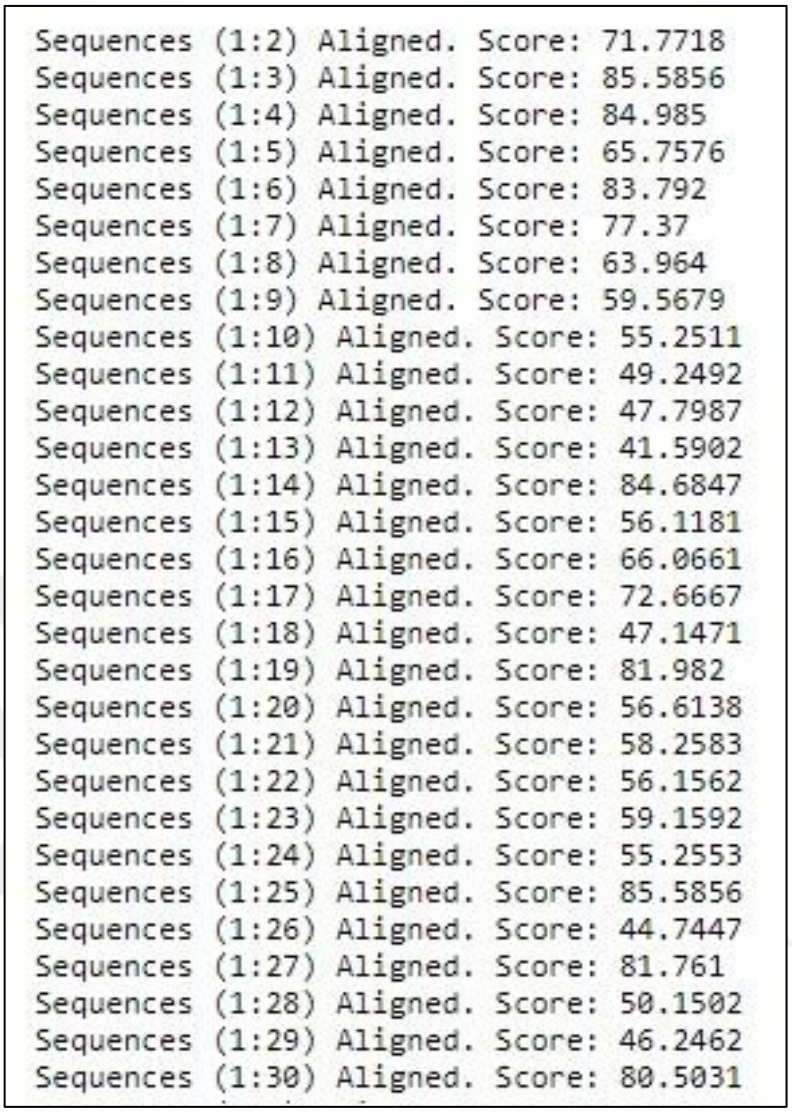
Bu çalışmada, canlılar Memeli, Kuş-Sürüngen, Balık sınıflarına göre 3 grupta incelenmiştir. Memeliler grubundan 15 çeşit hayvan, Kuş-Sürüngen grubundan 5 çeşit hayvan ve Balık grubundan 10 çeşit hayvan ile çalışılmıştır. FASTA formatında hazırlanmış olan bu canlı türlerinin genlerinin baz dizileri ClustalW programına gönderilerek benzerlik oranları karşılaştırılmıştır. Bu canlı türlerinin birbiriyle olan benzerlik oranlarının analizleri yapılmıştır. Çalışmada kullanılan 30 hayvan çeşidinin Sequence Numaraları ve baz uzunlukları Şekil 3.2'de gösterilmiştir. Canlıların Sequence Numaraları ve bu numaraların ifade ettiği canlı türü isimleri ile numaraları takip ederek benzerlik oranları karşılaştırılması yapılmıştır.

30 canlı türünden en uzun baz dizisine sahip canlı 24 numaralı canlı, en kısa baz dizisine sahip canlı 10 numaralı canlıdır. Her numara bir canlıyı temsil etmektedir.



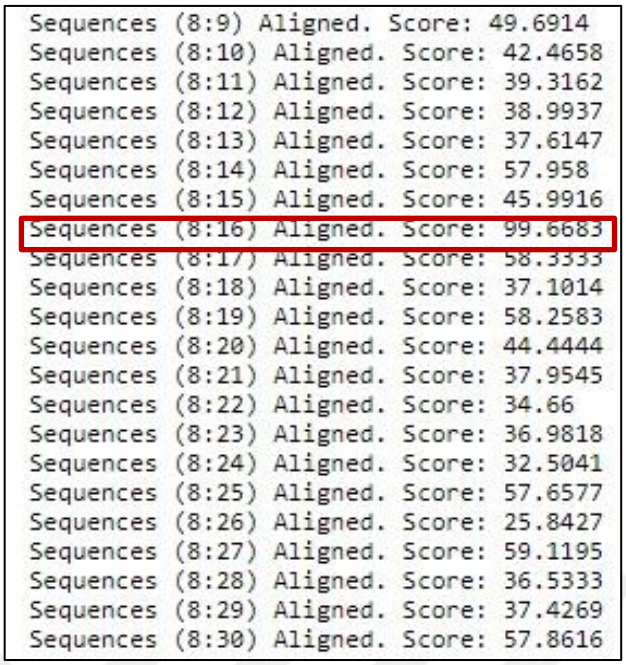
Şekil 3.2. Canlıların ClustalW baz uzunlukları

Çalışmada kullanılan hayvan türlerinin eşleştirme numaraları ile benzerlik oranları Şekil 3.3'te gösterilmiştir.



Şekil 3.3. İnsan ve hayvan türlerinin eşleştirme sonucu

ClustalW programında çıkan sonuçtan anlaşıldığı üzere geçmiş yıllarda INS geninin memeli bir hayvan türü olan domuzdan elde edilmesi bu çalışmada da gösterilmiştir. Domuzda bulunan INS geni ile insanda bulunan INS geni benzerlik oranın %80'in üzerinde olması geçmiş yıllarda neden domuzdan bu genin elde edilmesini açıklamaktadır. Domuz INS geni ve insan INS geni uyumu bu verilerle ifade edilmiştir. Ayrıca aynı türler arasındaki uyum 8 numaralı şempanze ile 16 numaralı bonobo arasında Şekil 3.4'te gösterilmiştir. Benzerlik oranları karşılaştırılmasında aynı türler arasındaki genler genelde uyumlu çıkmıştır. Bu çalışmada, görüldüğü üzere bonobo ve şempanze arasındaki INS geni uyumu %99' tur.



Şekil 3.4. Bonobo ve şempanze benzerlik oranı

ClustalW' da yapılan eşleştirmelerin görüntüleri Şekil 3.5'te ve 3.6'da görülmektedir.

```
INS_CHİ_CKEN_ENSGALT000000      CGATCACTGCCTCTTCTGGCTCTCCTTGTCTTTTCTGGCCCTGGAACCAG
INS_HUMMİ_NGBİ_RD_NC_0      CAATCACTGCCTCTCCTGGCCCTTCTTGCTCTTTCTGGCCCCGGGACCAG
INS_DUCK_XM_021272534.2           CGGTCGCTGCCTCTCCTGGCCCTTCTTGCTCTTTCTGGCCCTGGGATCAG
INS_TURTLE_NW_020664522.1         CGATCACTGCCTCTCCTGGCCCTCCTTGCTCTTTCTGGCCCCCCTATCAG
INS_GUİ_NEAPİ_G_ENSCPO      CATCTCCTCACCGTGCTGGCCCTGCTGGCCCTCTGGGGGCCCAACACTGG
INS_DEGU_ENSODET00000023906.1       CATCTCCTCACCGTGCTGGCCCTGCTGGCCCTCTGGGGACCCAACTCTGT
INS_CHİ_MPANZEE_ENSPTRG000      CGCCTCCTGCCCCTGCTGGTGCTGCTGGCCCTCTGGGGACCTGACCCAGC
INS_BONOBO_ENSPPAG00000040990.      CGCCTCCTGCCCCTGCTGGCGCTGCTGGCCCTCTGGGGACCTGACCCAGC
INS_HUMAN_ENSG00000254647           CGCCTCCTGCCCCTGCTGGCGCTGCTGGCCCTCTGGGGACCTGACCCAGC
INS_DOG_ENSCAFT00000083211.1        CGCCTCCTGCCCCTGCTGGCCCTGCTGGCCCTCTGGGCGCCCGCGCCCAC
INS_Dİ_NGO_ENSCAFG00020017      CGCCTCCTGCCCCTGCTGGCCCTGCTGGCCCTCTGGGCGCCCGCGCCCAC
INS_LEOPARD_ENSPPRG00000013093      CGCCTCCTGCCCCTGCTGGCCTTGCTGTCCCTCTGGACCCCTGCGCCGAC
INS_WILD_YAK_ENSBMUG0000002039      CGCCTGGCGCCCCTGCTGGCCCTGCTGGCGCTCTGGGCCCCCGCCCCGGC
INS_GOAT_ENSCHIG00000011044.1       CGCCTGGTGCCCCTGCTGGCCCTGCTGGCGCTCTGGGCCCCCGCCCCGGC
INS_PİG_ENSSSCT0005001134       CGCCTCCTGCCCCTGCTGGCCCTGCTGGCCCTCTGGGCGCCCGCCCCGGC
INS_HORSE_ENSECAT00000026502.3      CGCCTCCTGCCCCTGCTGGCCCTGCTGGCCCTCTGGTCGCCCAGCCCTGC
INS_ELEPHANT_ENSLAFG0000002091      CGCCTCCTGCCGCTGCTGGCCCTGTTGGCCGTCGGGGCACCCCCGCCTGC
INS_ARCTİ_C_GROUND_SQU□      CGCCTGCTGCCCCTGCTGGCCCTGCTGGCCCTCCTGGGGCCTGACCCTGC
INS_MOUSE_ENSMUST00000039652.5      CACTTCCTACCCCTGCTGGCCCTGCTTGCCCTCTGGGAGCCCAAACCCAC
INS_CAECİ_Lİ_AN_NC_042      CAGGCACTGCCGCTCTTGGCCGTTTTGGCTTTCTTCGCCCCCA---CCTG
INS_SPİ_NYCHROMİ_S_ENS      CAGTCCTTCTCCCTGCTGGTTCTGCTGGTGGTATCGTGGCCGAGCTCTCA
INS_CLOWNANEMONEFİ_SH_ENSA      CAGTCCTTCTCCCTGCTGGTTCTGCTGGTGGTATCGTGGCCAAGCTCTCA
INS_INDIANGLASSYFISH_ENSPRNG00      CAGTCCTTCTCCCTGCTGGTCTTACTGGTGGTATCGTGGCCGGGCTCCCA
INS_FUGU_ENSTRUG00000030504.1       CAGTCTGTCTCTCTGCTGCTCTTAATGGTTGTATCGTCACCGGGCTCTCA
INS_COD_ENSGMOG00000008660.1        GCTGGTTCCATCATGGCGGTGCTGCTGGCCTTGTCCTGGTCCAGTCTTGA
INS_ATLANTİ_CSALMON_ENSSSA      CAAGCTGCGTCTCTGCTGGTGCTGCTGGCACTCTCCCCCG-GGGCAG--A
INS_ATLANTİ_CHERRİ_NG_      CAAACAGCTGCTCTGCTGATCATGGTGGCACTGTCGTCCACGGGCGGTGA
INS_ZEBRAFİ_SH_ENSDART0000      CAGGCTGGTGCTCTGTTGGTCCTGTTGGTCGTGTCCAGTGTAAGCACTAA
INS_NORTHENPİ_KE_ENSELUG00      ------------------------------ATGTATAGCGAAACTCAACT
INS_ELEKTRİ_CEEL_ENSEEET00      TGGTCTAATCACTTGGCCCTCTCTCTATCAAACCCACCATTGCCCTCCAA
```

Şekil 3.5. Hayvan türlerinin eşleştirilme görüntüsü 1



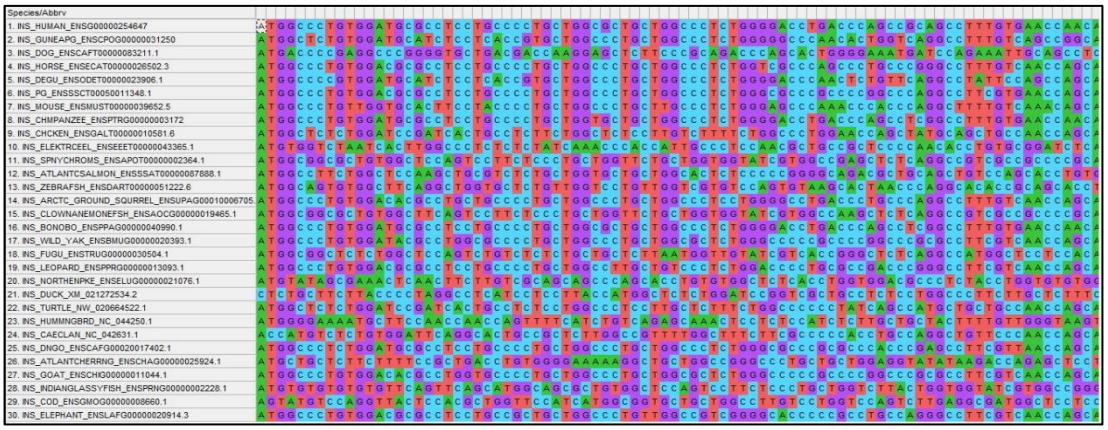
Şekil 3.6. Hayvan türlerinin eşleştirme görüntüsü 2

İnsanda bulunan INS geni ve hayvan türlerinde bulunan INS geni baz dizisi eşleştirmelerinden örnekler verilmiştir. Baz dizisi uyumuna göre benzerlik değerlerinin sonuçları neticesinde ihtiyaç duyulan gen bölgesinin hangi hayvandan tespit edileceği biyoinformatik temelli bu tür programlardan elde edilebilmektedir.

3.2. Gen Dizisi MEGA Programı Uygulaması

Günümüzde biyoinformatik temelli programlar denildiğinde en çok kullanılan program MEGA X programıdır. Bu çalışmada, MEGA'nın en son sürümü olan MEGA X programı kullanılmıştır.

Elde ettiğimiz FASTA formatını MEGA X programında MEGA formatına çevirdikten sonra verilerin analizi Şekil 3. 7'de görülmektedir.



Şekil 3.7. MEGA programı baz dizisi

MEGA programında incelenen 30 canlı türünün programda filogenetik analizinin gerçekleştirilebilmesi için +Gama değerinin görüntülenmesi ve bir kenara not edilmesi gerekmektedir. Bu çalışmada Şekil 3.8'de görüldüğü gibi Gama Değerimiz 5,22'dir.

Table. Maximum Likelihood fits of 24 different nucleotide substitution models

Model	Parameters	BIC	AICc	lnL	(+I)	(+G)	R	f(A)	f(T)	f(C)	f(G)	r(AT)	r(AC)	r(AG)	r(TA)	r(TC)	r(TG)	r(CA)	r(CT)	r(CG)	r(GA)	r(GT)
K2+G+I	60	46648.190	46168.777	-23024.221	0.03	5.22	1.12	0.250	0.250	0.250	0.250	0.059	0.059	0.132	0.059	0.132	0.059	0.059	0.132	0.059	0.132	0.059
K2+G	59	46678.579	46207.151	-23044.413	n/a	5.16	1.04	0.250	0.250	0.250	0.250	0.061	0.061	0.128	0.061	0.128	0.061	0.061	0.128	0.061	0.128	0.061
K2+I	59	46752.455	46281.027	-23081.352	0.02	n/a	1.03	0.250	0.250	0.250	0.250	0.061	0.061	0.127	0.061	0.127	0.061	0.061	0.127	0.061	0.127	0.061
T92+G+I	61	46773.385	46285.987	-23081.821	0.03	5.11	1.15	0.237	0.237	0.263	0.263	0.055	0.061	0.141	0.055	0.141	0.061	0.055	0.127	0.061	0.127	0.055
GTR+G+I	67	46785.779	46250.477	-23058.030	0.02	2.50	1.17	0.228	0.246	0.269	0.257	0.057	0.060	0.131	0.052	0.153	0.053	0.051	0.140	0.066	0.116	0.051
HKY+G+I	63	46785.804	46282.438	-23078.035	0.03	5.11	1.14	0.228	0.246	0.269	0.257	0.057	0.063	0.137	0.053	0.143	0.060	0.053	0.131	0.060	0.122	0.057
TN93+G+I	64	46794.225	46282.874	-23077.247	0.03	5.16	1.15	0.228	0.246	0.269	0.257	0.057	0.063	0.130	0.053	0.151	0.060	0.053	0.138	0.060	0.115	0.057
T92+G	60	46808.127	46328.714	-23104.190	n/a	5.11	1.05	0.237	0.237	0.263	0.263	0.058	0.064	0.135	0.058	0.135	0.064	0.058	0.121	0.064	0.121	0.058
JC+G+I	59	46810.516	46339.088	-23110.382	0.03	5.65	0.50	0.250	0.250	0.250	0.250	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083
HKY+G	62	46821.848	46326.466	-23101.054	n/a	5.06	1.05	0.228	0.246	0.269	0.257	0.060	0.066	0.132	0.056	0.137	0.063	0.056	0.126	0.063	0.116	0.060
TN93+G	63	46831.079	46327.713	-23100.672	n/a	5.06	1.05	0.228	0.246	0.269	0.257	0.060	0.066	0.127	0.056	0.142	0.063	0.056	0.130	0.063	0.112	0.060
JC+G	58	46840.781	46377.338	-23130.512	n/a	5.60	0.50	0.250	0.250	0.250	0.250	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083
GTR+G	66	46857.738	46330.420	-23099.008	n/a	5.11	1.05	0.228	0.246	0.269	0.257	0.059	0.064	0.127	0.055	0.143	0.055	0.055	0.131	0.071	0.112	0.053

Şekil 3.8. DNA Gama değeri

Şekil 3.9'da program verilerinden elde edilen gen bölgeleri ve genetik uzaklıkları gösterilmiştir.

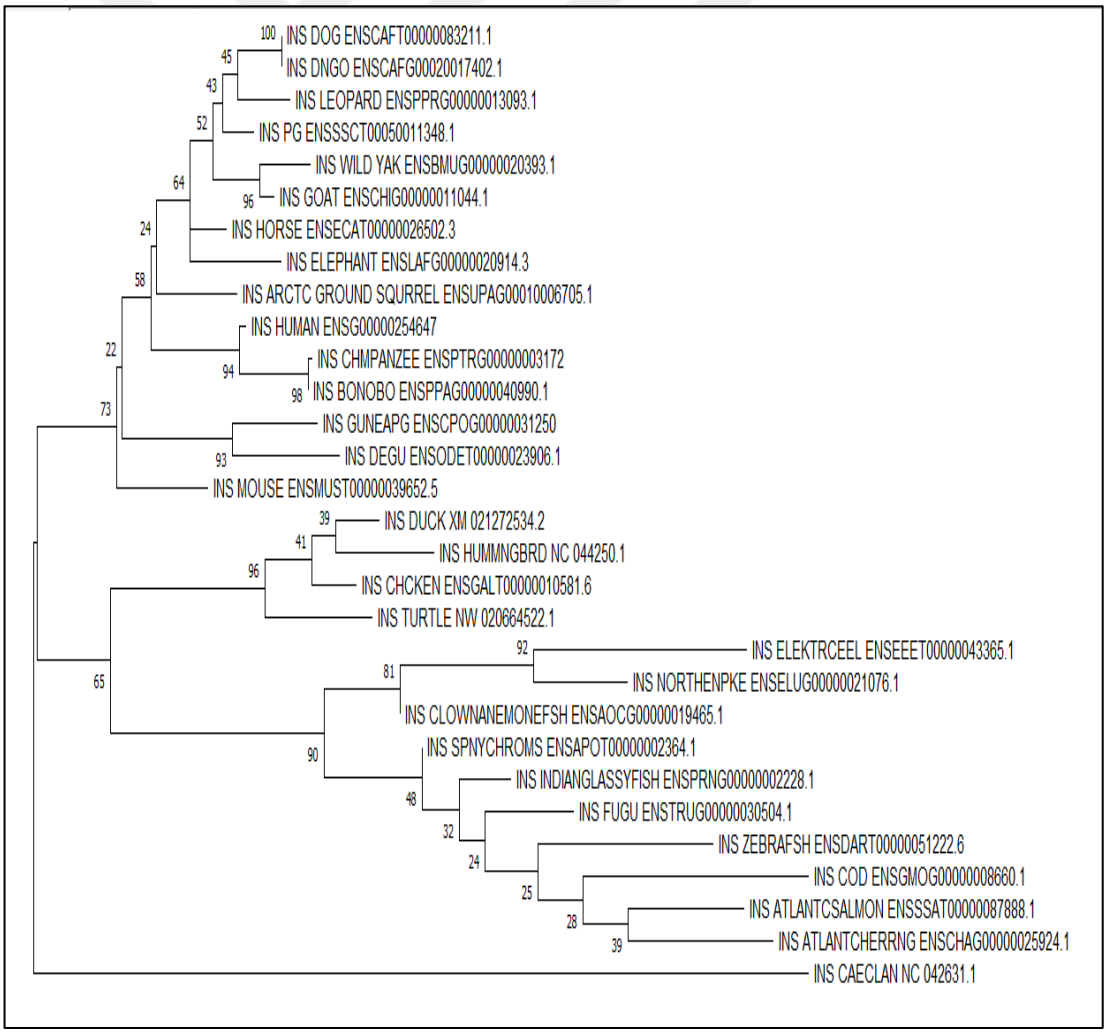
	Species 1	Species 2	Dist
2	INS HUMAN ENSG00000254647	INS GUNEAPG ENSCPOG00000031250	0,3028194247
3	INS HUMAN ENSG00000254647	INS DOG ENSCAFT00000083211.1	0,1517373105
4	INS GUNEAPG ENSCPOG00000031250	INS DOG ENSCAFT00000083211.1	0,3597122410
5	INS HUMAN ENSG00000254647	INS HORSE ENSECAT00000026502.3	0,1704020745
6	INS GUNEAPG ENSCPOG00000031250	INS HORSE ENSECAT00000026502.3	0,3208059818
7	INS DOG ENSCAFT00000083211.1	INS HORSE ENSECAT00000026502.3	0,1333352066
8	INS HUMAN ENSG00000254647	INS DEGU ENSODET00000023906.1	0,3344833290
9	INS GUNEAPG ENSCPOG00000031250	INS DEGU ENSODET00000023906.1	0,2329172708
10	INS DOG ENSCAFT00000083211.1	INS DEGU ENSODET00000023906.1	0,3688496179
11	INS HORSE ENSECAT00000026502.3	INS DEGU ENSODET00000023906.1	0,3471793810
12	INS HUMAN ENSG00000254647	INS PG ENSSSCT00050011348.1	0,1580256810
13	INS GUNEAPG ENSCPOG00000031250	INS PG ENSSSCT00050011348.1	0,3427909535
14	INS DOG ENSCAFT00000083211.1	INS PG ENSSSCT00050011348.1	0,1060211859
15	INS HORSE ENSECAT00000026502.3	INS PG ENSSSCT00050011348.1	0,1171498006
16	INS DEGU ENSODET00000023906.1	INS PG ENSSSCT00050011348.1	0,3756601526
17	INS HUMAN ENSG00000254647	INS MOUSE ENSMUST00000039652.5	0,2236057462
18	INS GUNEAPG ENSCPOG00000031250	INS MOUSE ENSMUST00000039652.5	0,3290678935
19	INS DOG ENSCAFT00000083211.1	INS MOUSE ENSMUST00000039652.5	0,2070379970
20	INS HORSE ENSECAT00000026502.3	INS MOUSE ENSMUST00000039652.5	0,2158088263
21	INS DEGU ENSODET00000023906.1	INS MOUSE ENSMUST00000039652.5	0,3748699452
22	INS PG ENSSSCT00050011348.1	INS MOUSE ENSMUST00000039652.5	0,2186054334
23	INS HUMAN ENSG00000254647	INS CHMPANZEE ENSPTRG00000003172	0,3491834168
24	INS GUNEAPG ENSCPOG00000031250	INS CHMPANZEE ENSPTRG00000003172	0,6883354705
25	INS DOG ENSCAFT00000083211.1	INS CHMPANZEE ENSPTRG00000003172	0,4857213752
26	INS HORSE ENSECAT00000026502.3	INS CHMPANZEE ENSPTRG00000003172	0,4841192257
27	INS DEGU ENSODET00000023906.1	INS CHMPANZEE ENSPTRG00000003172	0,7760897138
28	INS PG ENSSSCT00050011348.1	INS CHMPANZEE ENSPTRG00000003172	0,4203769417
29	INS MOUSE ENSMUST00000039652.5	INS CHMPANZEE ENSPTRG00000003172	0,5581692790
30	INS HUMAN ENSG00000254647	INS CHCKEN ENSGALT00000010581.6	0,7798335193

Şekil 3.9. Gen bölgeleri ile genetik uzaklıkları

Programda baz frekansları f(A) = 0,250; f(T) = 0,250; f(C) = 0,250; f(G) = 0,250 ve +G (Gamma distribution) = 5,22 olarak elde edilmiştir.

3.3. Gen Dizisi Filogenetik Ağaç Oluşturulması

MEGA X programında modelleme yöntem ve mesafesi (Maximum Likelihood metodu Tamura-Nei Modeli (1993), Bootstrap 1000) belirlenerek filogenetik ağaç oluşturulmuştur. DNA parçaları bireylerin birbirleriyle ilişkili olan türler içi ve türler arası genetik farklılıkları ölçmek için çok önemli bir ölçüttür [43]. INS geni türler arasındaki uyumu ve çeşitliliği göstermek için kullanılmaktadır. Bunun en büyük nedeni korunmuş ve değişken bölgelere sahip olduklarından türler arasındaki ilişkileri açıklamaya yardımcı olmasıdır. Şekil 3.10'da INS Geni ve canlı türleri arasındaki uyum gösterilmektedir.



Şekil 3.10. ML metodu ile oluşturulan moleküler filogenetik ağacı 1

3.4. Protein Dizisi FASTA Formatı Hazırlanması

NCBI veri tabanından elde etmiş olduğumuz 30 canlı türünün protein dizileri ve erişim numaraları Tablo 3.2'de gösterilmektedir. Korunmuş bir gen olan INS geninin protein dizileri açısından diğer canlı türleri ile uyumun tespiti amaçlanmıştır.

Tablo 3.2. Canlıların protein dizilerinin erişim numaraları

Numara	Sınıf	İsmi	Erişim Numarası
1	Memeliler	Human	AAA59172.1
2	Memeliler	Guineapig	AAX33329.1
3	Memeliler	Dog	NP_001123565.1
4	Memeliler	Horse	XP_023510474.1
5	Memeliler	Degu	AAX33340.1
6	Memeliler	Pig	P01315.2
7	Memeliler	Mouse	P01324.1
8	Memeliler	Chimpanzee	P30410.1
9	Memeliler	Arctic Ground Squirrel	XP_026269446.1
10	Memeliler	Bonobo	XP_008967348.1
11	Memeliler	Wild Yak	XP_005903567.1
12	Memeliler	Leopard	XP_019292555.1
13	Memeliler	Dingo	XP_025307639.1
14	Memeliler	Fil	XP_003422420.1
15	Memeliler	Goat	XP_017898974.1

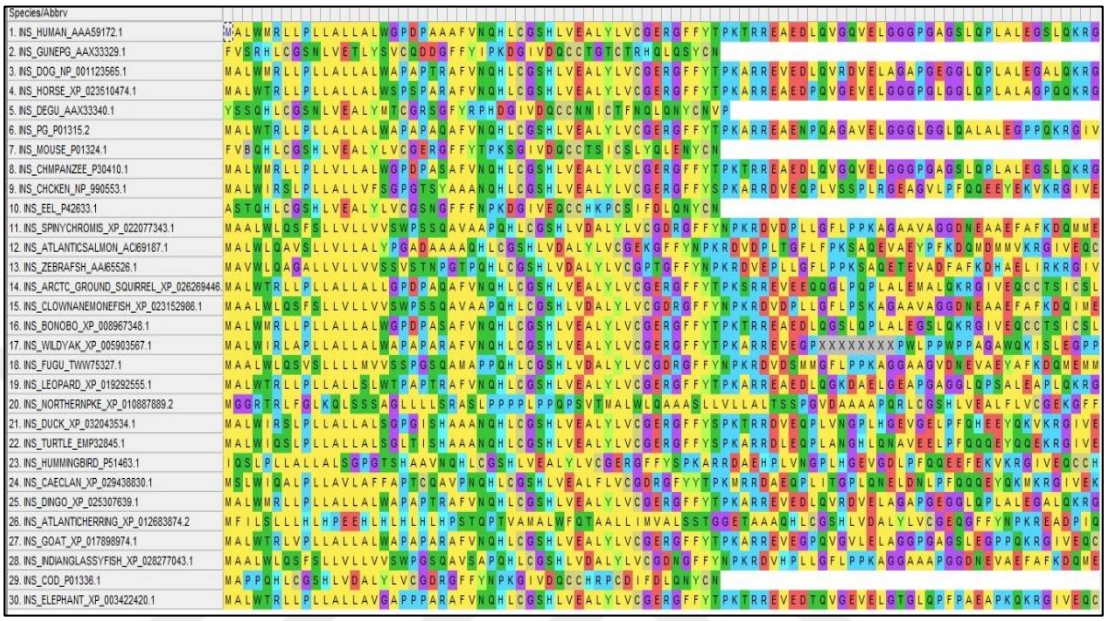
Tablo 3.2. (Devam) Canlıların protein dizilerinin erişim numaraları

Numara	Sınıf	İsmi	Erişim Numarası
1	Kuş	Chicken	NP_990553.1
2	Sürüngen	Caecilian	XP_029438830.1
3	Kuş	Duck	XP_032043534.1
4	Sürüngen	Turtle	EMP32845.1
5	Kuş	Hummingbird	P51463.1
Numara	**Sınıf**	**İsmi**	**Erişim Numarası**
1	Balık	Spinychromis	XP_022077343.1
2	Balık	Atlanticsalmon	ACI69187.1
3	Balık	Zebrafish	AAI65526.1
4	Balık	Clownanemonefish	XP_023152986.1
5	Balık	Fugu	TWW75327.1
6	Balık	Atlanticcherring	XP_012683874.2
7	Balık	Indıanglassyfish	XP_028277043.1
8	Balık	Elektriceel	P42633.1
9	Balık	Northernpıke	XP_010887889.2
10	Balık	Cod	P01336.1

Çalışmada kullanılan canlıların insülin protein gen dizileri MEGA X programına atılarak filogenetik analizleri yapılmıştır. Böylelikle MEGA X programında hem DNA hem protein dizi analizi yapılmış ve sonuçları incelenmiştir.

3.5. Protein Dizisi MEGA Programı Uygulaması

Şekil 3.11'de INS geni protein dizisi eşleştirmeleri gösterilmiştir. Görüldüğü üzere aynı aminoasite sahip diziler aynı renk ile gösterilmektedir.



Şekil 3.11. INS protein dizisi eşleştirmesi

MEGA programında incelenen 30 canlı türünün programda filogenetik analizinin gerçekleştirilebilmesi için +Gama değerinin görüntülenmesi ve bir kenara not edilmesi gerekmektedir. Bu çalışmada Şekil 3.12'de görüldüğü gibi Gama Değerimiz 0,63'tür.

Table. Maximum Likelihood fits of 56 different amino acid substitution models

Model	Parameters	BIC	AICc	*lnL*	(+I)	(+G)	f(A)	f(R)	f(N)	f(D)	f(C)	f(Q)	f(E)	f(G)	f(H)	f(I)	f(L)	f(K)	f(M)	f(F)	f(P)	f(
Dayhoff+G	58	1825.106	1521.815	-700.528	n/a	0.63	0.087	0.041	0.040	0.047	0.034	0.038	0.050	0.089	0.034	0.037	0.085	0.081	0.015	0.040	0.051	0.0
Dayhoff+G+I	59	1830.129	1521.694	-699.383	0.00	0.61	0.087	0.041	0.040	0.047	0.034	0.038	0.050	0.089	0.034	0.037	0.085	0.081	0.015	0.040	0.051	0.0
JTT+G	58	1832.625	1529.334	-704.287	n/a	0.55	0.077	0.051	0.043	0.051	0.020	0.041	0.062	0.075	0.023	0.053	0.091	0.060	0.023	0.041	0.051	0.0
JTT+G+I	59	1836.219	1527.784	-702.429	0.00	0.53	0.077	0.051	0.043	0.051	0.020	0.041	0.062	0.075	0.023	0.053	0.091	0.060	0.023	0.041	0.051	0.0
WAG+G	58	1841.872	1538.581	-708.911	n/a	0.59	0.087	0.044	0.039	0.057	0.019	0.037	0.058	0.083	0.024	0.048	0.086	0.062	0.020	0.038	0.046	0.0
LG+G	58	1841.989	1538.698	-708.969	n/a	0.49	0.079	0.056	0.042	0.053	0.013	0.041	0.072	0.057	0.022	0.062	0.099	0.065	0.023	0.042	0.044	0.0
LG+G+I	59	1844.826	1536.391	-706.732	0.00	0.48	0.079	0.056	0.042	0.053	0.013	0.041	0.072	0.057	0.022	0.062	0.099	0.065	0.023	0.042	0.044	0.0
WAG+G+I	59	1847.180	1538.745	-707.909	0.00	0.58	0.087	0.044	0.039	0.057	0.019	0.037	0.058	0.083	0.024	0.048	0.086	0.062	0.020	0.038	0.046	0.0
Dayhoff+I	58	1858.454	1555.163	-717.202	0.27	n/a	0.087	0.041	0.040	0.047	0.034	0.038	0.050	0.089	0.034	0.037	0.085	0.081	0.015	0.040	0.051	0.0
JTT+I	58	1860.991	1557.700	-718.470	0.34	n/a	0.077	0.051	0.043	0.051	0.020	0.041	0.062	0.075	0.023	0.053	0.091	0.060	0.023	0.041	0.051	0.0
rtREV+G	58	1862.286	1558.995	-719.118	n/a	0.47	0.065	0.045	0.038	0.042	0.011	0.061	0.061	0.064	0.027	0.068	0.102	0.075	0.015	0.029	0.068	0.0
rtREV+G+I	59	1867.809	1559.374	-718.224	0.00	0.47	0.065	0.045	0.038	0.042	0.011	0.061	0.061	0.064	0.027	0.068	0.102	0.075	0.015	0.029	0.068	0.0
WAG+I	58	1871.094	1567.803	-723.522	0.32	n/a	0.087	0.044	0.039	0.057	0.019	0.037	0.058	0.083	0.024	0.048	0.086	0.062	0.020	0.038	0.046	0.0
LG+I	58	1871.893	1568.601	-723.921	0.35	n/a	0.079	0.056	0.042	0.053	0.013	0.041	0.072	0.057	0.022	0.062	0.099	0.065	0.023	0.042	0.044	0.0
Dayhoff	57	1875.852	1577.707	-729.556	n/a	n/a	0.087	0.041	0.040	0.047	0.034	0.038	0.050	0.089	0.034	0.037	0.085	0.081	0.015	0.040	0.051	0.0
rtREV+I	58	1890.046	1586.755	-732.998	0.35	n/a	0.065	0.045	0.038	0.042	0.011	0.061	0.061	0.064	0.027	0.068	0.102	0.075	0.015	0.029	0.068	0.0
mtREV24+G	58	1892.641	1589.349	-734.295	n/a	0.46	0.072	0.019	0.039	0.019	0.006	0.025	0.024	0.056	0.028	0.087	0.168	0.023	0.053	0.060	0.055	0.0
JTT	57	1894.768	1596.623	-739.014	n/a	n/a	0.077	0.051	0.043	0.051	0.020	0.041	0.062	0.075	0.023	0.053	0.091	0.060	0.023	0.041	0.051	0.0
WAG	57	1896.230	1598.086	-739.745	n/a	n/a	0.087	0.044	0.039	0.057	0.019	0.037	0.058	0.083	0.024	0.048	0.086	0.062	0.020	0.038	0.046	0.0
mtREV24+G+I	59	1898.343	1589.908	-733.491	0.00	0.45	0.072	0.019	0.039	0.019	0.006	0.025	0.024	0.056	0.028	0.087	0.168	0.023	0.053	0.060	0.055	0.0

Şekil 3.12. Protein gama değeri

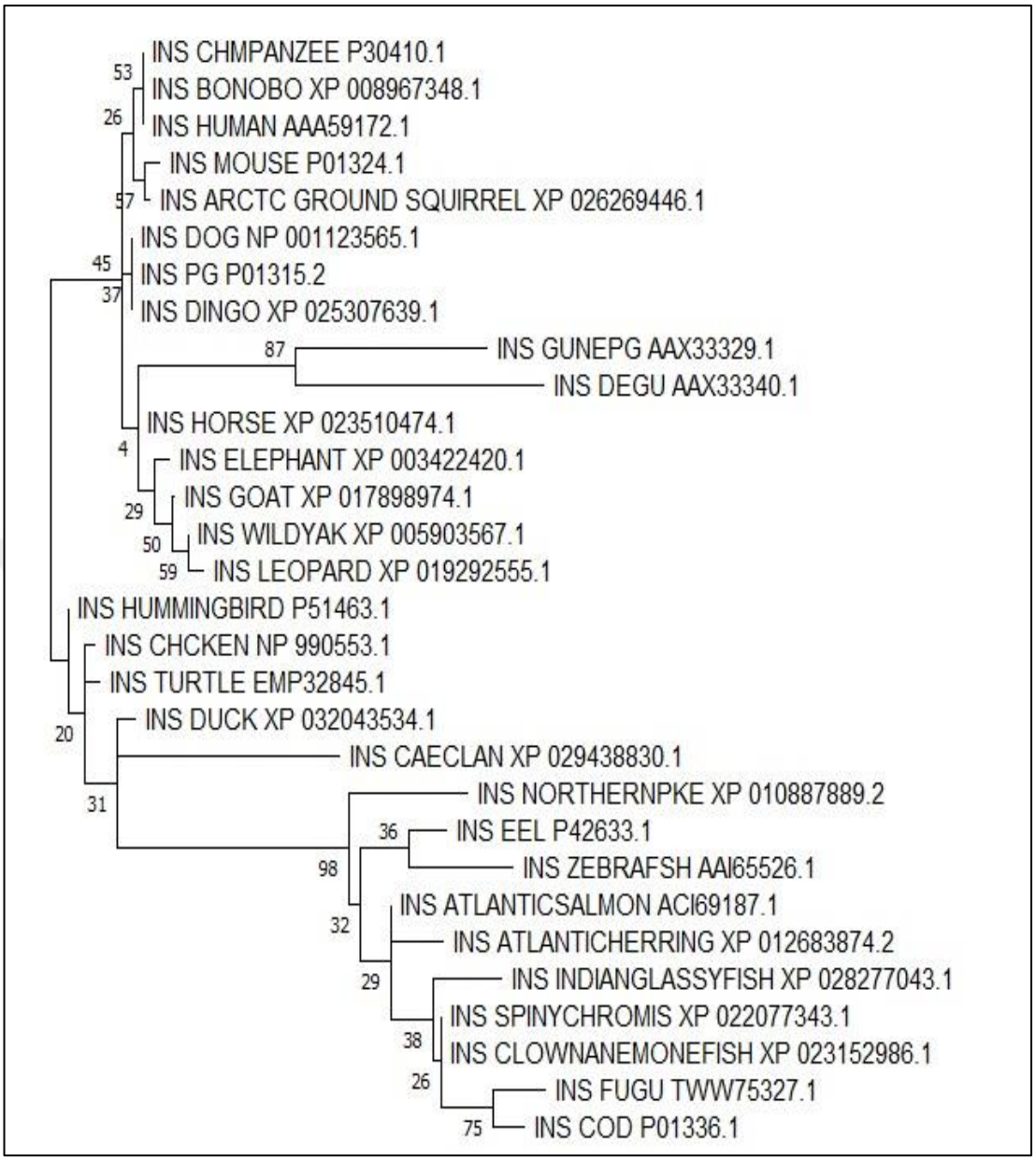
Programda baz frekansları f(A) = 0,87; f(R) = 0,041; f(N) = 0,040; f(G) = 0,089 ve +G (Gamma distribution) = 0,63 olarak elde edilmiştir. Şekil 3.13'te protein gen bölgeleri ve genetik uzaklıkları gösterilmiştir.

1	Species 1	Species 2	Dist
2	INS HUMAN AAA59172.1	INS GUNEPG AAX33329.1	0,4539848620
3	INS HUMAN AAA59172.1	INS DOG NP 001123565.1	0,1272967575
4	INS GUNEPG AAX33329.1	INS DOG NP 001123565.1	0,4539848620
5	INS HUMAN AAA59172.1	INS HORSE XP 023510474.1	0,1272967575
6	INS GUNEPG AAX33329.1	INS HORSE XP 023510474.1	0,4216281897
7	INS DOG NP 001123565.1	INS HORSE XP 023510474.1	0,1486815590
8	INS HUMAN AAA59172.1	INS DEGU AAX33340.1	0,4659204090
9	INS GUNEPG AAX33329.1	INS DEGU AAX33340.1	0,4325007715
10	INS DOG NP 001123565.1	INS DEGU AAX33340.1	0,4659204090
11	INS HORSE XP 023510474.1	INS DEGU AAX33340.1	0,4659204090
12	INS HUMAN AAA59172.1	INS PG P01315.2	0,1406992410
13	INS GUNEPG AAX33329.1	INS PG P01315.2	0,4539848620
14	INS DOG NP 001123565.1	INS PG P01315.2	0,1516940695
15	INS HORSE XP 023510474.1	INS PG P01315.2	0,0980736760
16	INS DEGU AAX33340.1	INS PG P01315.2	0,4659204090
17	INS HUMAN AAA59172.1	INS MOUSE P01324.1	0,0409820317
18	INS GUNEPG AAX33329.1	INS MOUSE P01324.1	0,4002666152
19	INS DOG NP 001123565.1	INS MOUSE P01324.1	0,0409820317
20	INS HORSE XP 023510474.1	INS MOUSE P01324.1	0,0622435778
21	INS DEGU AAX33340.1	INS MOUSE P01324.1	0,4106664573
22	INS PG P01315.2	INS MOUSE P01324.1	0,0409820317
23	INS HUMAN AAA59172.1	INS CHMPANZEE P30410.1	0,0183814266
24	INS GUNEPG AAX33329.1	INS CHMPANZEE P30410.1	0,4539848620
25	INS DOG NP 001123565.1	INS CHMPANZEE P30410.1	0,1379227991
26	INS HORSE XP 023510474.1	INS CHMPANZEE P30410.1	0,1379227991
27	INS DEGU AAX33340.1	INS CHMPANZEE P30410.1	0,4659204090
28	INS PG P01315.2	INS CHMPANZEE P30410.1	0,1516940695
29	INS MOUSE P01324.1	INS CHMPANZEE P30410.1	0,0409820317
30	INS HUMAN AAA59172.1	INS CHCKEN NP 990553.1	0,4372005822

Şekil 3.13. Protein gen bölgeleri ve genetik uzaklıkları

3.6. Protein Dizisi Filogenetik Ağaç Oluşturulması

MEGA X programında modelleme yöntem ve mesafesi (Maximum Likelihood metodu Tamura-Nei Modeli (1993), Bootstrap 1000) belirlenerek filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Filogenetik ağaç, dallar arasındaki uyum ve aynı türlerin bir arada bulunmasıyla hem türlerin uyumu hem de INS protein dizisi uyumu gösterilmiştir. Oluşturulan filogenetik ağaç incelendiğinde türler arasındaki sınıflandırma gösterilmiştir. Şekil 3.14'te program verilerinden elde edilen filogenetik ağaç gösterilmiştir. Aynı türde olan canlıların ortak dal içerisinde bulunduğu ve bu dalların birbirleri ile olan uyumu gösterilmiştir.



Şekil 3.14. ML metodu ile oluşturulan moleküler filogenetik ağacı 2

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada, öncelikle INS insan geni elde edilip ardından BLAST veri tabanında INS geni ile uyumlu olan hayvan türleri analiz edilmiştir. Ardından seçilen 30 canlı türünün gen bölgeleri elde edilerek erişim numaraları ile birlikte FASTA formatında kaydedilmiştir. Geçmiş yıllarda INS geninin domuz geninden elde edilmesi ile gerçekleşen gen uyumu ClustalW programında gösterilmiştir. INS geninin domuz geni olan uyumu %80 üzerinde çıkmıştır. Günümüzde yaygın bir şekilde kullanılmakta olan biyoinformatik temelli programlardan MEGA X ile veriler programa atılarak hem eşleşmeler hem de filogenetik analizler yapılmıştır. Bu çalışmada bulunan 30 canlı türünün hem DNA hem de protein dizileri erişim numaraları mevcut bulunmaktadır.

Filogenetik sınıflandırma, canlıları birçok benzerlik açısından incelemektedir. Bunlar DNA benzerliği, anatomik benzerlik, protein benzerliği, homolog organ (aynı kökene sahip fakat görevleri açısından farklılık gösteren organlar) benzerliği gibi özelliklerine göre yapılır. Filogenetik sınıflandırma en çok kullanılan benzerlik türü ise DNA benzerliğidir. Bu yüzden bu çalışmada INS geni hem DNA hem de protein dizileri olarak incelenmiştir.

Biyotıp ve biyoinformatik alanında insülin hakkında yapılmış birçok çalışma mevcuttur. INS canlılar için en önemli hormonlardan birisi olduğu için üzerinde yapılan çalışmalar hala devam etmektedir. Chakraborty ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmalarda da INS ile ilgili veriler bulunmaktadır. INS geninin önemi yapılan çalışmalara bakıldığında anlaşılmaktadır. INS geninin çalışması disiplinler arası alanda yayılmaktadır. Sadece insan için değil INS geni tüm canlılar için önem arz etmektedir. INS geni ile ilgili tıp, bilişim, mühendislik ve genetik gibi disiplinler arası çalışmalar yapılmaktadır. Hayati bir önem taşıyan bu genin incelemeleri günümüzde hala devam etmektedir. Bu çalışmada, 3 tür hayvan grubu ve 30 canlı türü analizi yapılmıştır. Çalışmada kullanılan canlıların isimleri ve bu canlılara ait DNA dizilerinin veri tabanından erişim numaraları gösterilmiştir. Yapılan bu analizler ve incelemeler neticesinde ClustalW programında domuz geni uyumunun yanı sıra diğer türler arasındaki uyumlar da gösterilmiştir.

INS geni benzerlik oranları karşılaştırılmasında en az uyum Balık türünde olduğu analiz edilmiştir. INS geninin korunmuş bir gen olması sebebiyle canlı türleri arasında uyumu bu gen ile yapılmış olan diğer çalışmalarda da ifade edilmiştir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Biyoinformatik, farklı şekillerde oluşturulmuş biyolojik bilgilerin saklanması amacıyla veri tabanlarının meydana gelmesidir. Biyoinformatik konusunda yapılmış ve yapılmakta olan çalışmaların çoğunlukla biyolojik verilerin analizini kapsadığı görülmektedir. Gerçekleştirilmekte olan projelerin çoğunluğunda biyolojik bilgilerin bir araya gelmesi ve bu bilgilerin analizi ile ilgili çalışmaların yapıldığı görülmektedir. Biyoinformatik alanında oluşturulan veri tabanlarının içeriğine bakıldığında nükleik asitler ile ilgili birçok yapılmış çalışmalardan oluşturulduğu kabul görmüştür.

Araştırmacıların çalışmalarını yapabilmeleri için var olan nükleotidlerin bir alanda kayıtlı olması ve bu kayıtların bir araya getirilmesi için veri tabanlarının oluşturulması gerekmektedir. Biyoinformatik alanında nükleotid dizilerinin kayıtlarını ve bir arada tutulmasını gerçekleştiren üç kuruluş vardır. Bunlardan birincisi Gen bankası (GenBank) ikincisi Avrupa Moleküler Biyoloji Laboratuvarı (EMBL) üçüncüsü ise DNA Japonya veri tabanıdır (DDBJ). Biyoinformatik alanında veriler sunan bu kuruluşlar, araştırmacıların bu kaynaklardan ücretsiz yararlanması, veri tabanında kayıtlı olan nükleotid bilgilerinin bir araya getirilmesi ve paylaşılıp çoğaltılması konusunda ortaklaşa bir çalışma içerisindedirler. Gen dizilerinin alışverişi bu üç kuruluşta da internet üzerinden e-mail, ftp, www adreslerinden hizmet sunulmaktadır. Gen dizilerinin yanı sıra protein dizileri ile ilgili veriler sunan hizmet sağlayıcıları ise GenBank, PIR International, EMBL ve Swiss-Prot'tur. National Center for Biotechnology Information merkezi, biyoinformatik ile ilgili veriler ve aynı zamanda kaynaklar sunan en önemli web sayfalarından birisi haline gelmektedir. Biyoinformatik'in en önemli özelliklerinden birisi de saklanan biyolojik bilgilerin analizidir. Çeşitli organizmalardaki DNA dizilerinin hangi genlere ait olduğunun belirlenmesi için analiz yapılmaktadır. Yeni keşfedilen proteinlerin ve RNA dizilerinin yapı işlev ilişkilerinin belirlenebilmesinin yöntemini belirlemektedir. Bu çalışmada, biyoinformatik temelli programlar oldukça kullanılmaktadır. Çalışmada mevcut bulunan verilerin diğer çalışmalara da yön vereceği düşünülmektedir. Çalışmada kullanılan 30 tane canlı türünün isimleri ve erişim numaraları ile yapılacak çalışmalara

yardım sağlayacağı öngörülmektedir. Yapılması düşünülen çalışmalarda biyoinformatik temelli programlar hakkında bilgiler verilmiştir. Biyoinformatik temelli programlarından birisi olan MEGA X'in kullanım aşamaları çalışmada bulunmaktadır. Bu çalışmada, INS yapısı ve önemi vurgulanıp INS geninin biyoinformatik temelli programlar kullanılarak diğer canlı türlerindeki uyumu ve korunan bölgelerin analizi ile filogenetik ağaç oluşturulmuştur. ClustalW ile yapılan hizalama işlemi ile 30 canlı türü numaralandırılması yapılmış olup benzerlik oranları karşılaştırması yapılmıştır. Domuz geni ile uyum %80'in üzerinde ve Balık grubuna ait olan zebra balığı benzerlik oranı ise %41 çıkmıştır. Bonobo ve şempanzenin benzerlik oranı %90'ın üzerinde çıkması aynı iki türün benzerliğinin doğruluğunu göstermiştir. Diğer canlı türlerindeki benzerlik oranları da gösterilmektedir. MEGA X programında ise filogenetik ağaç 1000 Bootstrap değeri ile yani programa girilen verilerin 1000 kez eşleştirilmesi sonucunda yapılmıştır. Filogenetik ağaç ile türlerin kendi içinde sınıflandırılması mevcuttur. Chakraborty ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmalarda INS geni aminoasit dizileri erişim numaraları ile birlikte verilmiş olup bu çalışmada da kullanılan biyoinformatik temelli programlar kullanılarak filogenetik analiz yapılmıştır. INS geni korunmuş bir gen bölgesi olması sebebiyle türlerin sınıflandırılmasında kullanılmaktadır. Chakraborty ve arkadaşlarının çalışmasında da korunmuş gen bölgeleri ile tür analizi yapılacağı belirtilmektedir. Chakraborty INS geni aminoasit çalışması yaparken bu çalışmada hem nükleotid hem de aminoasit dizisi kullanılmıştır. Literatürdeki çalışmalarda korunan aminoasit dizileri elde edilip sınıflandırma yapılmaktadır. Bu çalışma, INS geni ile ilgili moleküler düzeyde ileride yapılacak olan daha geniş kapsamlı çalışmalara yol gösterip yardımcı olabilmektedir.

KAYNAKLAR

[1] Büyükdevrim S., Yılmaz M. T., Satman İ., Dinççağ N., Karsıdağ K., Altuntas Y., *Diyabetolojiye Giriş Laboratuvar ve Klinik Tanı Kriterlerinin Standardizasyonu*, 5. Baskı, Fatih Ofset, İstanbul, 1996.

[2] Atalay R. Ç., Neden Biyoinformatik, *Avrasya Dosyası Moleküler Biyoloji ve Gen Teknolojileri Özel*, Sonbahar 2002, **8**(3), 129-141.

[3] Luscombe N. M., Greenbaum D., Gerstein M., What is Bioinformatics: A Proposed Definition and Overview of the Field, *Method inform Med*, 2001, **40**(4),346-358.

[4] Yazıcı C. A., Akın C. A., Bürçe B., Çevirici B., Şahin B., Şahin E., Şahin Y., Disiplinler Arası Bir Bilim Dalı: Biyoinformatik, *Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi XVI. Öğrenci Sempozyumu*, Ankara, Türkiye, 14-16 Mayıs 2014.

[5] Kuonen D., Challanges in Bioinformatics for Statistical Data Miners, *Bulletin of the Swiss Statistical Society*, 2003, **46**, 10-17.

[6] Kumaresan V., Bhatt P., Palanisamy R., Gnanam A. J., Pasupuleti M., Arockiaraj J., A Murrel Cysteine Protease, Cathepsin L: Bioinformatics Characterization Gene Expression and Proteolytic Activity, *Biologia*, 2014, **69**(3), 395-406.

[7] Aydın İ., Şeker ve Diyabet, *Göller Bölgesi Aylık Hakemli Ekonomi ve Kültür Dergisi*, 2013, **1**(9), 25-28.

[8] Altuntaş Y., Abi A., Diyabetiklerde İnsülin Enjeksiyonu Uygulama Tekniklerinin Ve Hatalarının Metabolik Kontrol Üzerine Etkilerinin İncelenmesi, İç Hastalıkları Uzmanlık Tezi, Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2.İç Hastalıkları Kliniği, İstanbul, 2009.

[9] Yılmaz M. T, Editörden Galenos, *Aylık Sağlık Meslek Dergisi* , 1997, **1**(3), 1-5.

[10] Watkins P. J., Drury P. L., Howell S. L., *Diabetes and Its a Managenant*, 5th ed., Blackwell ,USA,1996.

[11] Uçan Ö., Ovayolu N., Torun S., Diabetes Mellitus'lu Hastaların Kan Şekeri Kontrolü Ve İnsülin Kullanımına Yönelik Bilgilerinin Belirlenmesi, *Atatürk Üniversitesi Hemşirelik Yüksekokulu Dergisi*, 2007, **10**(1), 89-96.

[12] DeCoste K. C., Scott L. K., Diabetes Update: Promoting Effective Disease Management, *Journal of the American Association of Occupational Health Nurses* ,2004, **52**(8), 344-353.

[13] Sandıkçı S., Diyabetin Kronik Komplikasyonları Folia, *Hipertansiyon Diyabet Atheroskleroz Dergisi*, 2004, **4**(1), 5-11.

[14] Kitiş Y., Diyabetlilerin Evde İzlenmesinin Diyabet Kontrolüne Etkisi. *Hemşirelik Forumu Dergisi* ,2004, **7**(3),1-10.

[15] Barut Y., Murat B., Pre-Diyaliz, Hemodiyaliz ve Sürekli Ayaktan Periton Diyalizi Hastalarında İnsülin Direncinin Karşılaştırılması, Uzmanlık Tezi, Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2. Dahiliye Kliniği, İstanbul, 2004.

[16] TatoA J., Czech A., Piatkiewicz P., Insulin As The Main Regulator Of Cellular Glucose Utilization--Aetiological Aspects Of İnsulin Resistance, *Endokrynol Pol*, 2010, **61**(4), 388-394.

[17] Savaş B. H., Gültekin F., İnsülin Direnci ve Klinik Önemi, *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, DOI:10.17343/sdutfd.264358.

[18] Banting F., Best C.,The İnternal Secretion of The Pancreas, *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine* ,1922, **7**(1), 251–266.

[19] Beardsall K., Diderholm B. M., Dunger D. B. , Insulin and Carbohydrate Metabolism, *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol Metab*. ,2008, **22**(1), 41–55.

[20] Cheatham B. , Kahn C. R., Insulin Action and The Insulin Signaling Network, *Endocr. Rev.* ,1995, **16**(2), 117–142.

[21] Ryle A. P., Sanger F., Smith L. F., Kitai R.,The Disulphide Bonds of Insulin, *Biochem. J.*, 1955, **60**(4), 541–556.

[22] Blundell T. L., Cutfield, J. F. , Cutfield S. M., Dodson E. J. , Dodson G. G. , Hodgkin D. C. , Mercola D. A. , Vijayan M., Atomic Positions in Rhombohedral 2-Zinc Insulin Crystals, *Nature*, 1971, **231**(5304), 506–511.

[23] Blundell T. L., Dodson G. G., Dodson E., Hodgkin D. C., Vijayan M., X-Ray Analysis and The Structure of Insulin, *Recent Prog. Horm. Res.* , 1971, **27**, 1–40.

[24] Chan S. J., Steiner D. J., Insulin Through The Ages: Phylogeny of a Growth Promoting and Metabolic Regulatory Hormone, *Am. Zool*., 2000, **40**, 213–222.

[25] Shabanpoor F., Separovic F., Wade J. D., The Human Insulin Superfamily Of Polypeptide Hormones, *Vitam. Horm.*, 2009, **80**, 1-31.

[26] Oubre A. Y., Carlson T. J., King S. R., Reaven G. M., From Plant to Patient: an Ethnomedical Approach to The Identification of New Drugs For The Treatment of NIDDM, *Diabetologia* ,1997, **40**(5), 614-7.

[27] Marwood F. S., Diabetes Mellitus--Some Reflections, *J R Coll Gen Pract*., 1973, **23**(126), 38-45.

[28] Gemmill C. L., The Greek Concept of Diabetes, *Bull N Y Acad Med*, 1972, **48**(8),1033-6.

[29] Shi Y., Guan Y., He M., Molecular Identification of Insulin-Related Peptide Receptor and Its potential Role in Regulating Development in Pinctada Fucata, *Aquaculture*, 2013, **408-409**,118-227.

[30] Chakraborty C., Roy S. S., Hsu M. J., Agoramoorthy G., Can Computational Biology Improve The Phylogenetic Analysis of Insulin?, *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 2012,**108**(2), 860–872.

[31] Chakraborty C., Doss P. G. C.,Bhatia R., Agoramoorthy G., Profiling of Phosphatidylinositol 3-Kinase (PI3K) Proteins in Insulin Signaling Pathway, Applied Biochemistry and Biotechnology, 2015, **175**(7), 3431–3446.

[32] Renteria E.M., Gandhi S. N., Vinuesa P., Helmerhorst E., Mancera L. R., A Comparative Structural Bioinformatics Analysis of the Insulin Receptor Family Ectodomain Based on Phylogenetic Information , *PLoS ONE*, DOİ:10.1371/journal.pone.0003667.

[33] Rodgers D. B., Roalson H. E., Thompson C., Phylogenetic Analysis Of The İnsulin-Like Growth Factor Binding Protein (IGFBP) And IGFBP-Related Protein Gene Families,*General and Comparative Endocrinology*, 2008, **155**(1), 201-207.

[34] Shrilakshmi S., Shankar V. K., Debayan D., Ananda K., Udupi A. R., Phylogenetic, Sequence And Structural Analysis Of Insulin Superfamily Proteins Reveals An İndelible Link Between Evolution And Structure-Function Relationship, *BioRxiv*, DOI: 10.1101/769497.

[35] Sinan Boyluoğlu, İnsülin, Saflaştırılması ve Sentetik İnsülinler, *FABAD Farm. Bil. Der.* ,1984, **9**(1), 5-14.

[36] Polat M., Karahan G. A., Multidisipliner Yeni Bir Bilim Dalı: Biyoinformatik Ve Tıpta Uygulamaları, *S.D.Ü. Tıp Fak. Derg.*, 2009, **16**(3), 41-50.

[37] Gastgeiger E., Gattiker A., Hoogland C., Ivanyi I., Apel R. D., Bairoch A., ExPASy: The Proteomics Server For İn-Depth Protein Knowledge and Analysis, *Nucleic Acids Res.*, 2003, **31**(13), 3784-3788.

[38] Felsensteın J., Estimation Of Hominoid Phylogeny From a DNA Hybridization Data Set, *Journal Of Moleculer Evolution*, 1987, **26**(1), 123-31.

[39] Freeman S., Herron J. C., (1999). Evrimsel Analiz, 4rd ed., Palme Yayıncılık, Ankara, 2009.

[40] Kumar S., Tamura K., Nei M., MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Software For Microcomputers, *Comput Appl Biosci*, 1994, **10**(2), 189–191.

[41] Kumar S., Stecher G., Tamura K., MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 For Bigger Datasets, *Mol Biol Evol.*, 2016, **33**(7), 1870–1874.

[42] Kumar S., Stecher G., Peterson D., Tamura K., MEGA-CC: Computing Core Of Molecular Evolutionary Genetics Analysis Program For Automated And İterative Data Analysis, *Bioinformatics*, 2012, **28**(20), 2685–2686.

[43] Hoffmann M. P., Frodsham A. C.,Natural Enemies Of Vegetable İnsect Pests, 2rd ed.,Cooperative Extension, NY, 1993.

KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER

[1] Polat F., Durgun A., Olacam A., İnci G., **Doğan B. M.**, Uzun E., Işık E., Kocaeli Üniversitesi Umuttepe Yerleşkesi'nde Yayılış Gösteren Kertenkelelerin Moleküler Düzeyde Tür Tayini, *Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 2019, **2** (1), 01-06.

[2] Doğru Bolat E., **Doğan B. M.**, Şeker Hastalığı Tedavisinde Kullanılan INS Geninin Diğer Hayvan Türlerindeki Gen Uyumunun Tespiti, *3rd International GAP Mathematics-Engineering Science and Health Sciences Congress*, Şanlıurfa, Türkiye, 29 Kasım-1 Aralık 2019.

ÖZGEÇMİŞ

Merve Bahar DOĞAN 1989 yılında İzmit'te doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Antalya'da tamamladı. Antalya Atatürk Anadolu Teknik Lisesini birincilikle bitirdi. 2009 yılında ÖSYM derecesi ile girdiği Kocaeli Üniversitesi Teknik Eğitim Fakültesi Bilgisayar Öğretmenliği Bölümü'nden 2013 yılında 3.35 ortalama ile tamamlayıp mezun oldu. Mezun olduktan sonra çeşitli eğitim kurumlarında öğretmenlik yaptı. 2017 yılında Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomedikal Mühendisliği anabilim dalında yüksek lisans eğitimine başladı. Biyomedikal Mühendisliği anabilim dalı ders aşamasını 3.91 ortalama ile bitirdi. 2018 yılında Yüksek Öğretim Kurulu'na bağlı Üniversitelerarası Kurul Başkanlığına atandı. 2019 yılında Mardin'e Sözleşmeli Öğretmen olarak atandı. Halen Mardin de Bilişim Teknolojileri Öğretmeni olarak çalışmaktadır.