



TÜBİTAK – BİDEB

**LİSE ÖĞRETMENLERİ-FİZİK, KİMYA, BİYOLOJİ, MATEMATİK- PROJE
DANIŞMANLIĞI EĞİTİMİ ÇALIŞTAYI**

(LİSE-3 [ÇALIŞTAY 2013])

BİYOLOJİ PROJE RAPORU

GRUP SUSTURUCU

PROJE ADI

**Bazı Bitki Türlerindeki miRNA ların Muhtemel İnsan
Genlerindeki Hedeflerinin Belirlenmesi**

PROJE EKİBİ

Tuğba AVCU

PROJE DANIŞMANLARI

Prof.Dr. Gürcan GÜLERYÜZ

Doç. Dr. Kemal Melih TAŞKIN

ÇANAKKALE

02 – 10 ŞUBAT 2013

İçindekiler

İçindekiler.....	2
Projenin amacı	3
Giriş	3
Materyal ve yöntem	7
Bulgular	10
Sonuç ve tartışma	25
Teşekkür	26
Kaynakça	26
Özgeçmiş	27

PROJENİN AMACI

1. miRNA ların farkındalığın arttırılması.
2. Bazı Bitki türlerinde bulunan mikro RNA moleküllerinin insan komplementer genlerine ait olası hedef bölgelerinin tespit edilmesi.

1.GİRİŞ

1.1. Mikro RNA Keşfi

Aktarıldığında soyların özelliklerini etkileyen genetik bilgi DNA da taşınır. DNA nın ikili sarmal yapısı ise Watson ve Crick'in yaptığı çalışmalarla bulunmuştur. DNA da bütün kalıtsal materyaller toplanmıştır ancak bilgilerin hepsinin anlatımı olmayabilir. Depolanan bilginin anlatımı karmaşık bir işlemdir ve hücrede bilgi akışının temelini oluşturur. İlk işlem, DNA'nın mRNA, tRNA ve rRNA oluşturmak üzere transkripsiyonu (okuma) ile başlar. Bunlardan sadece mRNA'nın proteine çevirisi yapılır. Translasyon (çeviri), rRNA içeren ribozomlarda tRNA'nın da katılımıyla gerçekleşir. tRNA, mRNA'daki bilgiye göre, proteinleri oluşturacak amino asitleri taşımada yol alır. Sonuçta DNA'dan RNA, RNA'dan protein sentezlenir (1).

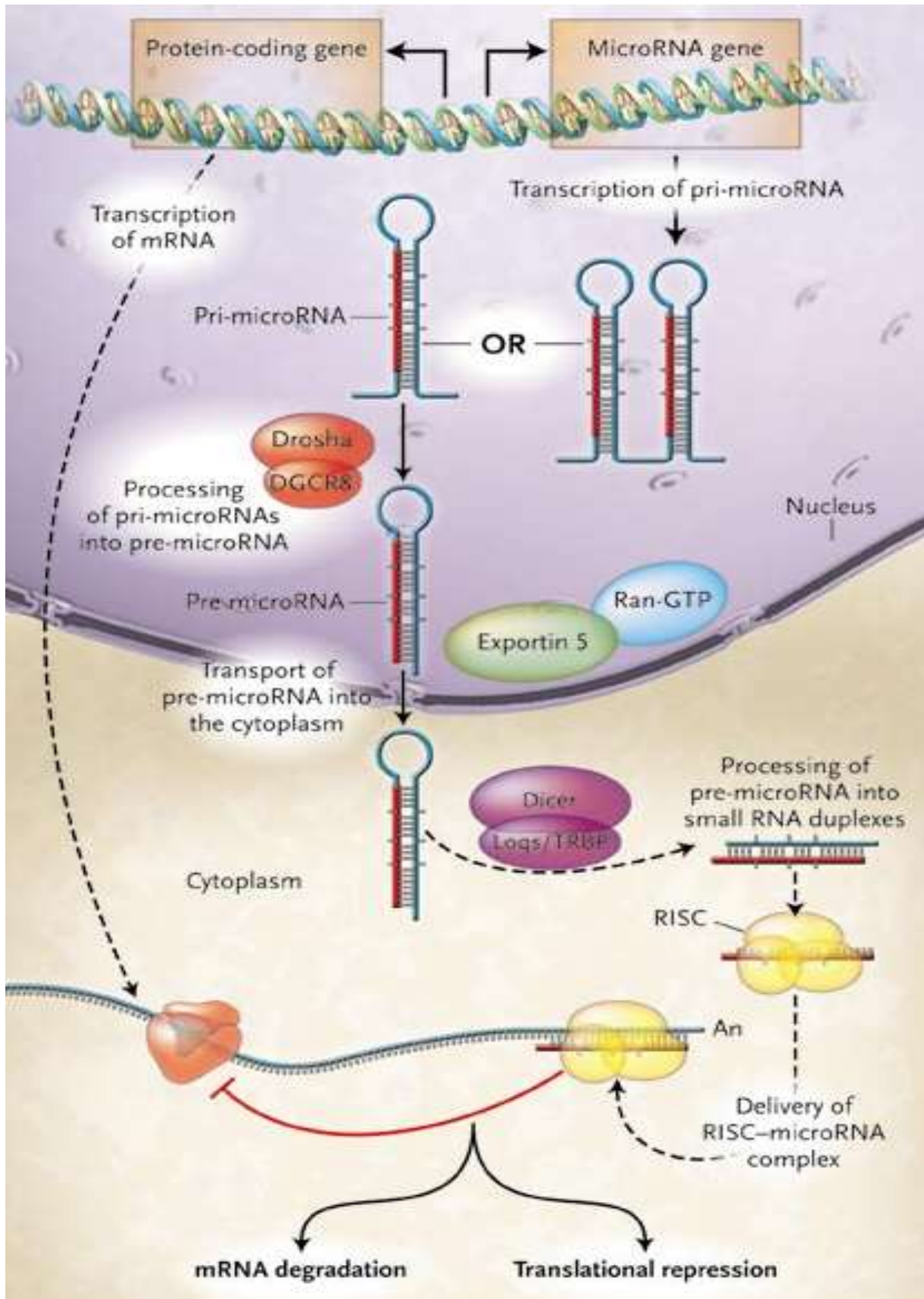
Santral doğma olarak adlandırılan bu görüş mikro RNA'ların DNA molekülünün anlatımının engellediğini bulması ile DNA'dan RNA'ya yönelik genetik bilginin aktarımı ve kontrolü konusunda ki hipotez sonlanmıştır. Mikro RNA ilk olarak petunyalarda keşfedilmesine rağmen (2), 1993 yılında Lee ve çalışma arkadaşları tarafından *Caenorhabditis elegans* model organizmasında lin-4 gen aktivasyon çalışması sırasında önemi fark edilmiştir (3). Bu korunmuş mekanizma bu zamana kadar *Plasmodium falciparum*, *Trypanosoma brucei*, *Planaria*, *Arabidopsis thaliana*, *Neurospora crassa*, *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila melanogaster*, zebra balığı, fare, ve insan olmak üzere birçok farklı organizmada bulunmuştur (4).

Endojen veya ekzojen kaynaklı genlerin RNA aracılı susturulmasını sağlayan bu mekanizma ile genom kararlılığı, hücre büyümesi ve farklılaşma (5), apoptoz (6), hücre döngüsünün kontrolü ve heterokromatin oluşumu (7), hücrenin transpozanlar ve virüsler gibi genomik parazitlerden korunması sağlanmaktadır (4).

1.2.Mikro RNA yapısı ve işlevi

MicroRNA'lar(miRNA) diğer genlerin anlatımları sonucu oluşan hedef mRNAların kararlılığına veya translasyon etkinliğine etki eden, 21-23 nükleotid uzunluğunda tek zincirli RNA molekülüdür. miRNA'lar DNA molekülünde proteinlere çevrilmeyen genler tarafından kodlanırlar.İlk olarak Caenorhabditis elegans'ta belirlenen bu genler diğer organizmalarda da araştırılmıştır.RNA “interference”; keşfedildiğinden beri metazoa, viridiplante, virus ve pek çok organizmada yapılan araştırmalar sonucu her biri farklı sayıda olan miRNA bulunmuştur.Metazoa grubuna ait Drosophila melanogaster'e ait 78, Caenorhabditis elegans'a ait 114; Vertabrata grubuna ait canlılarda Gallus gallus'ta 122, Canis familiaris'de 6 Homo sapiens'de 326, Mus musculus'ta 249 farklı miRNA bulunmuştur. Bitkilere bakıldığında Viridiplante grubuna ait Arabidopsis thaliana'da 117 miRNA belirlenmiştir (4).

RNAi yolağını kullanan tüm organizmaların Dicer'e ihtiyacı vardır. Dicer, bir RNAaz III enzimidir ve dsRNA'yı siRNA'lara parçalar (8). Daha sonra siRNA'lar RNA ile uyarılan susturma kompleksi (RISC) adı verilen bir komplekse bağlanır ve siRNA 2 tek iplikli hale gelir. Bir iplikçığı ayrılır. RISC'e bağlı kalan antisense iplikçığı hedef mRNA'daki komplementer bölgeye yapışır ve mRNA'nın parçalanmasına, dolayısıyla protein sentezinin transkripsiyon sonrası düzenlenmesine neden olur. Bu işleme post transkripsiyonel gen susturulması (PTGS) adı verilir. Susturma kompleksleri, Argonaute ailesinden birçok proteine sahiptir. Hem Dicer hem de Argonaute proteinleri, Piwi – Argonaute - Zwillie (PAZ) bölgesi içermekte ve bu bölgelerin mRNA parçalanmasında rolü olduğu tahmin edilmektedir (9) (10) (11) (12).



Şekil 1 miRNA biyogenezi ve mRNA'ya etki mekanizması

1.3.RNA interference mekanizması ve Hastalıklar

Yeni nesil ilaç teknolojileri, RNA antisense oligonükleotidleri, komplementer hedef mRNA'ya bağlanarak translasyonu engelleyemesi prensibine bağlı olarak geliştirilmektedir. RNA antisense oligonükleotidleri, komplementer hedef mRNA'ya bağlanarak translasyonu engelleyebilir veya RNAase H gibi endojenik nükleazlar ya da ribozim, DNazim gibi katalitik olarak aktif oligonükleotidler hedef mRNA'nın parçalanmasına yol açabilirler (13) (14) (15). Tıbbi açıdan öneminin yanı sıra ticari Pazar payı göz önüne alınarak Amerika'da Broad Enstitüsü tarafından kamu ve özel şirketlerin katılımı ile RNA konsorsiyumu kurulmuştur. Bu konsorsiyumun ticari ortak ve destekçileri üç büyük ilaç şirketi olan Bristol-Myers Squibb, Eli Lilly & Co., ve Novartis AG 'dir.Konsorsiyumun araştırma ortakları ise Harvard Üniversitesi ve Uygulama Hastanesi, Massachusetts Teknoloji Enstitüsü ve Biyomoleküler Araştırmalar için kurulmuş Whitehead Enstitüsü'dür.Konsorsiyumun amacı özel genlerin kapatılabilineceği RNA kitleri üretilerek araştırmacıların hastalıkların ggenetik mekanizmasını kolayca anlayabilmesini sağlamaktır (16).

Firma	Hastalık	Şu anki durumu	Kullanılan siRNA
Acuity Pharmaceuticals	Yaşa bağlı makuler dejenerasyon	Faz I Klinik	Modifiye siRNA
Alnylam Pharmaceuticals	Yaşa bağlı makuler dejenerasyon	Faz I Klinik	Direkt siRNA
Alnylam Pharmaceuticals	RSV enfeksiyonu	Faz I Klinik (2006)	Direkt siRNA
Alnylam Pharmaceuticals	Spinal kord yaralanmaları	Preklinik	Direkt siRNA
Alnylam Pharmaceuticals	Parkinson Hastalığı	Preklinik	Direkt siRNA
Benitec	Hepatit C	Yok	DNA direkt siRNA
Benitec	HIV	Faz I Klinik (2005)	Multipl siRNA
Intradigm Corporation	Solid tümörler	Preklinik	Nanopartikül siRNA
Sirna Therapeutics	Yaşa bağlı makuler dejenerasyon	Faz I Klinik	Modifiye siRNA
Sirna Therapeutics	Hepatit C	Preklinik	Modifiye siRNA
Sirna Therapeutics	Astım	Faz I Klinik (2006)	Sistemik siRNA
Sirna Therapeutics	Huntington hastalığı	Preklinik	AAV bazlı siRNA

Şekil 2 RNAi mekanizmasını tedaviye taşıyan firmalar, ilgili hastalıklar, şu anki durumları ve kullandıkları siRNA tipleri

2.MATERYAL VE YÖNTEM

Projede *Aegilops tauschii*, *Citrus clementine*, *Vitis vinifera*, *Zea mays*, *Glycine soja*, *Nicotiana glauca*, *Phaseolus vulgaris*, *Solanum tuberosum*, *Oryza sativa*, *Salvia sclarea* bitkilerinin mikro RNAları kullanılmıştır. Bu mikro RNAların insanda bulunan hedef genleri ile karşılaştırılarak genetik susturmaya uğrayan mRNAlar tespit edilmiştir.

Yukarıda ismi geçen bitkilere ait micro RNA dizileri biyoinformatik yöntem kullanılarak miRBASE veri tabandan elde edilmiş ve bu veriler text formatında kaydedilmiştir. Bu veriler NCBI veri tabanındaki insan genomundaki olası hedef genleri bulmada kullanılmıştır. Seçilen her miRNA'nın BLAST programında insan veri tabanı kullanılarak hedef genleri bulunmuştur. Hedef genlerin miRNA tarafından engellenebilmesi için 5' yönünden 2.nükleotitten itibaren 8.nükleotide kadar eksiksiz bağlanması gerektiği yapılan araştırmalarda bulunmuştur. (17) Bu nedenle BLAST sonucunda elde edilen eşleştirmelerde miRNA'ların transkrip üzerindeki bağlanma bölgeleri incelenmiştir.

Biyoinformatik: Amerikan Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi NCBI'ye göre (National Center for Biotechnology Information) biyoinformatik, biyoloji, bilgisayar bilimi ve bilgi teknolojilerinin birleşiminden oluşan bir disiplin olarak tanımlanmıştır. (18) (19)

Biyoinformatik, DNA dizileme teknolojilerindeki gelişmelerin ardından ortaya çıkan yeni bir bilim dalıdır. Amacı, deneyler ve gözlemsel çalışmalardan elde edilen verilerin yönetimi, depolanması, analizi ve yorumlanmasını sağlamaktır. Biyolojik araştırmalarda elde edilen veri boyutunun çok büyük olduğu için, bilgisayar teknolojisinin bu tip araştırmalarda kullanılmasını zorunlu kılmaktadır. Başlangıçta sadece veri tabanları ve bilgisayarlar kullanılarak sorunlar çözülmeye çalışılsa da daha sonra istatistik, uygulamalı matematik, tıbbi biyoloji, mikrobiyoloji gibi bilimlerinde kullanıldığı görülmektedir. (19)

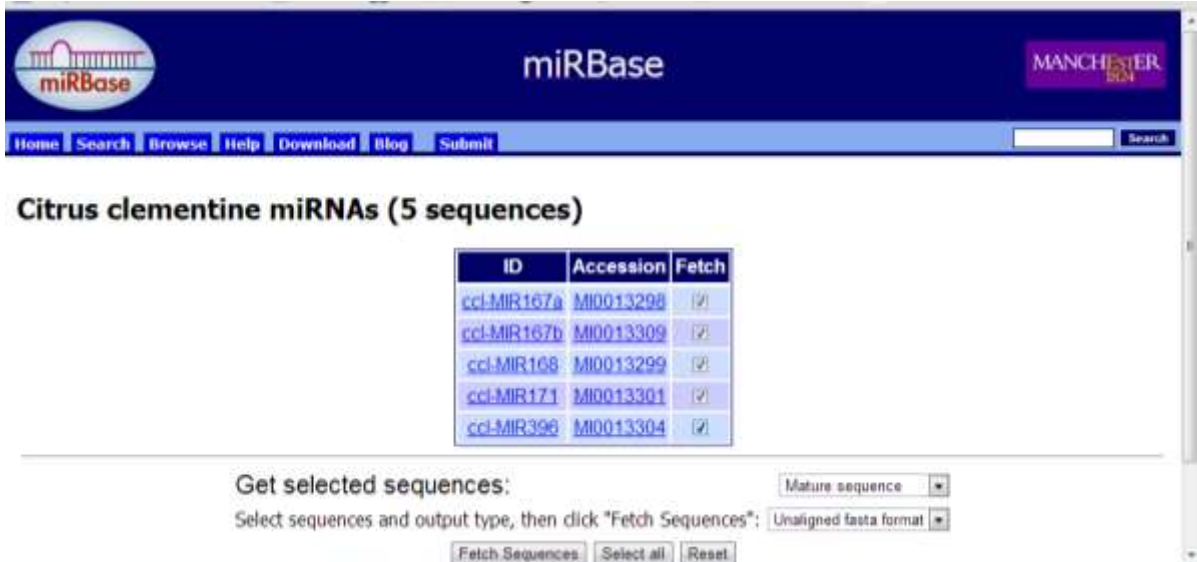
Biyoloji alanında şu ana kadar üretilen fazla miktardaki bilgi, biyoinformatik yol kullanarak saklanabilir ve bunlardan yararlanılabilir. Buna örnek olarak insan genom sayesinde ulaşılan bilgiler gelecekte kullanılmak üzere birincil veri kaynağı olarak saklanmaktadır. Biyoinformatik olmasaydı bu bilgilerin basılı olarak saklanması için, 560 ciltlik büyük boy 1000 sayfalık ansiklopedilerde saklamak gerekecekti. (20)

miRBASE: mikroRNAların bulunduğu ücretsiz erişimi olan bir veritabanıdır. (21)

Şekil 1: mir-Base mikro-RNA biyoinformatik arama motoru



Şekil2: mir-Base bitki mi-RNA seçimi

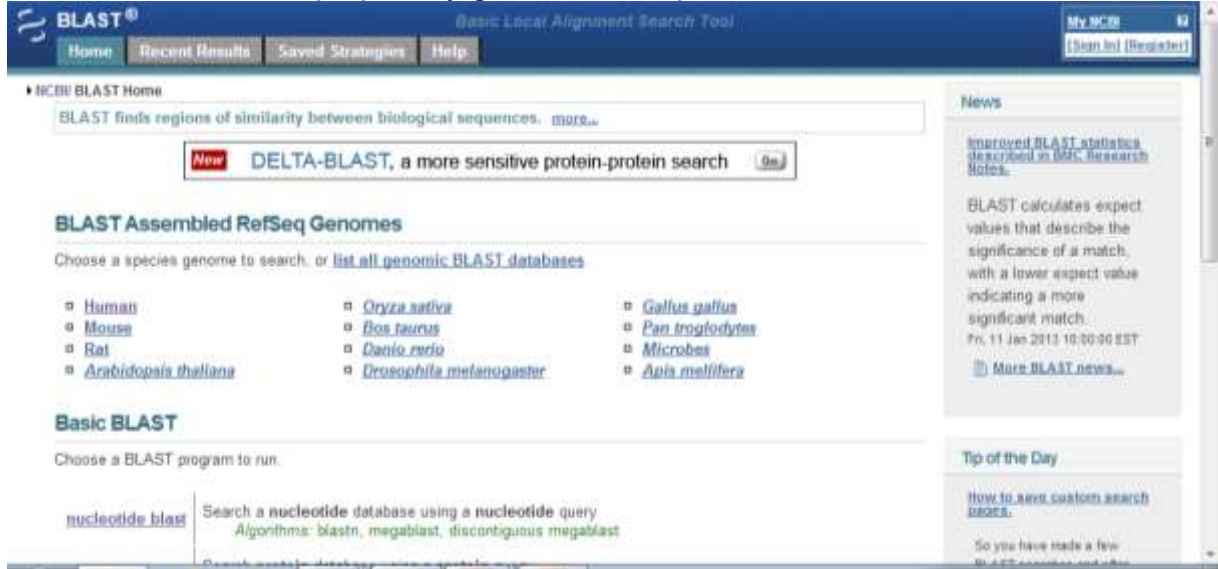


Şekil:3 mir-Base de bulunan mi-RNA dizilimleri

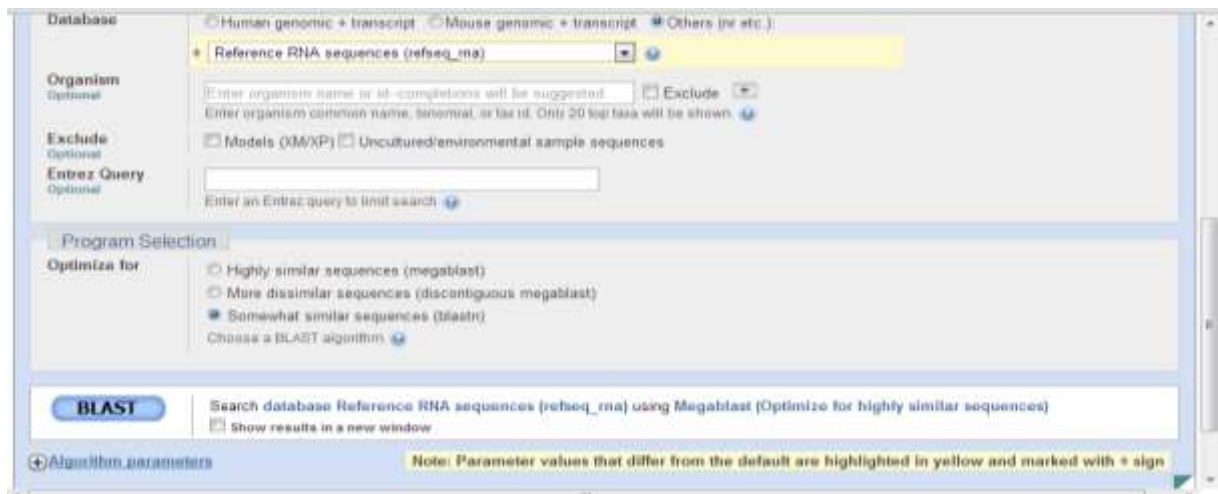
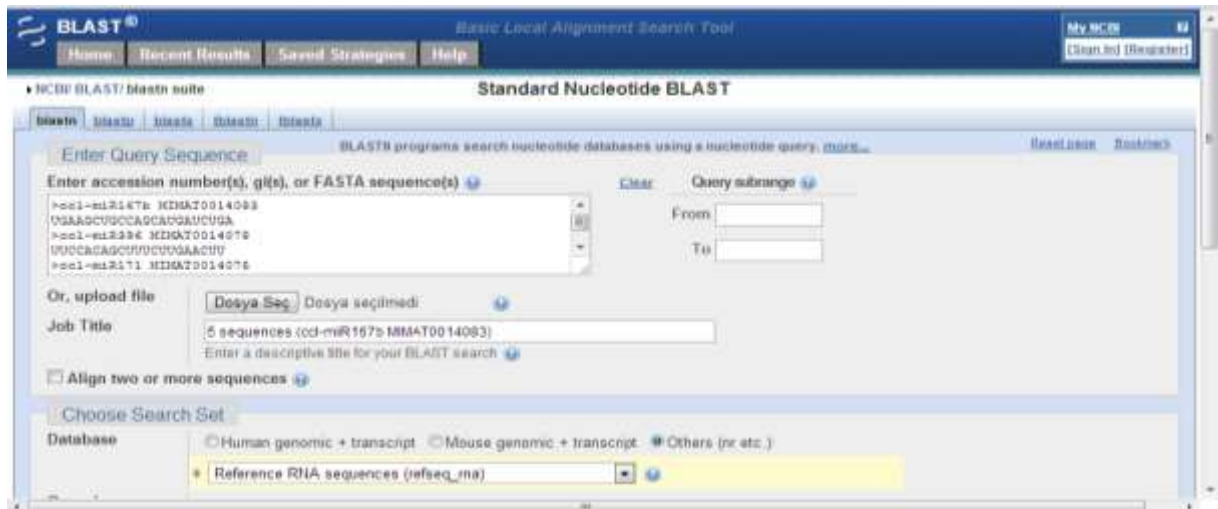
```
>ccl-miR167b MINAT0014073
UGAAGCUGCCASCAUGAUCUGA
>ccl-miR396 MINAT0014078
UCCACAGCUCUUCUUGAACUU
>ccl-miR171 MINAT0014078
USATUUAAGCCGCCCCAUAUC
>ccl-miR168 MINAT0014073
UCGCUUGGUCAGGUCGGAA
>ccl-miR167a MINAT0014072
UGAAGCUGCCASCAUGAUCUGA
```

National Center for Biotechnology Information (NCBI): Amerika ulusal moleküler biyoloji veritabanıdır.

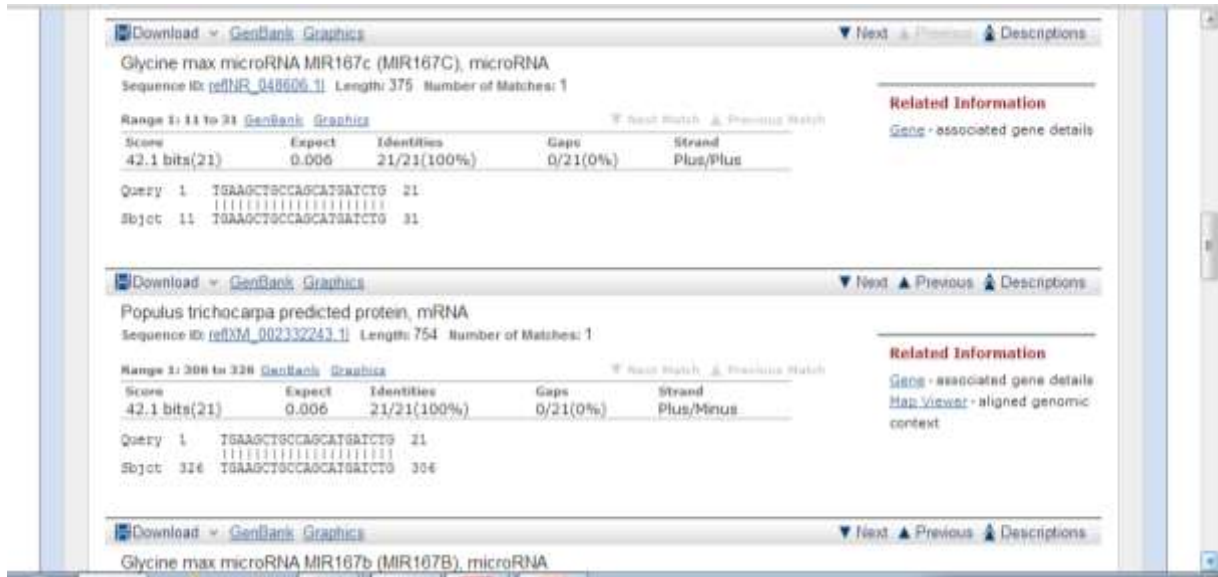
Sekil1: NCBI arama karşılaştırma yapılacak canlı seçimi



Sekil 2 ve 3: Verilen mi-RNA dizilerinin hedef canlıdaki hedeflerinin saptanması



Şekil4: Bulunan hedefler



3. BULGULAR

3.1. *Aegilops tauschii* Bitkisinin insan genomu üzerindeki komplementer dizilerinin bulunması

Ata mirna 172

```
>ref|NM_016200.4| Homo sapiens N(alpha)-acetyltransferase 38, NatC auxiliary subunit (NAA38), mRNA  
Length=12520
```

```
Score = 30.2 bits (15), Expect = 0.85  
Identities = 15/15 (100%), Gaps = 0/15 (0%)  
Strand=Plus/Minus
```

```
Query 2      GAGAATCTTGATGAT 16  
            |||  
Sbjct 12188  GAGAATCTTGATGAT 12174
```

ata-miR169 MIMAT0018217

```
>ref|NM_178812.3| Homo sapiens metadherin (MTDH), mRNA  
Length=7667
```

```
Score = 30.2 bits (15), Expect = 0.85  
Identities = 15/15 (100%), Gaps = 0/15 (0%)  
Strand=Plus/Plus
```

```
Query 2      AGCCAAGGATGAATT 16  
            |||  
Sbjct 3771   AGCCAAGGATGAATT 3785
```

3.2. *Citrus clementine* Bitkisinin insan genomu üzerindeki komplementer dizilerinin bulunması

Citrus clementine

ccl-miR167b MIMAT0014083

>ref|NM_198859.3| Homo sapiens prickly homolog 2 (Drosophila) (PRICKLE2), mRNA
Length=8322

Score = 32.2 bits (16), Expect = 0.19
Identities = 16/16 (100%), Gaps = 0/16 (0%)
Strand=Plus/Minus

```
Query 1      TGAAGCTGCCAGCATG 16
          |||
Sbjct 1979   TGAAGCTGCCAGCATG 1964
```

ccl-miR396 MIMAT0014078

>ref|NM_001270486.1| Homo sapiens calcium/calmodulin-dependent protein kinase kinase 2, beta (CAMKK2), transcript variant 9, mRNA
Length=4523

Score = 30.2 bits (15), Expect = 0.74
Identities = 15/15 (100%), Gaps = 0/15 (0%)
Strand=Plus/Minus

```
Query 1      TTCCACAGCTTTCTT 15
          |||
Sbjct 3670   TTCCACAGCTTTCTT 3656
```

ccl-miR171 MIMAT0014075

>ref|NM_001020.4| Homo sapiens ribosomal protein S16 (RPS16), mRNA
Length=603

Score = 28.2 bits (14), Expect = 2.9
Identities = 14/14 (100%), Gaps = 0/14 (0%)
Strand=Plus/Plus

```
Query 1      TGATTGAGCCGCGC 14
          |||
Sbjct 205    TGATTGAGCCGCGC 218
```

>ref|XM_003846287.1| PREDICTED: Homo sapiens uncharacterized LOC100996368 (LOC100996368), mRNA

ref|XM_003960741.1| PREDICTED: Homo sapiens uncharacterized LOC100996368 (LOC100996368),

mRNA
Length=639

Score = 26.3 bits (13), Expect = 12
Identities = 13/13 (100%), Gaps = 0/13 (0%)
Strand=Plus/Plus

```
Query 2 GATTGAGCCGCGC 14
      |||
Sbjct 30 GATTGAGCCGCGC 42
```

ccl-miR168 MIMAT0014073

>ref|NM_003631.2| Homo sapiens poly (ADP-ribose) glycohydrolase (PARG), mRNA
Length=4276

Score = 28.2 bits (14), Expect = 2.9
Identities = 14/14 (100%), Gaps = 0/14 (0%)
Strand=Plus/Minus

```
Query 1 TCGCTTGGTGCAGG 14
      |||
Sbjct 300 TCGCTTGGTGCAGG 287
```

ccl-miR167a MIMAT0014072

ALIGNMENTS

>ref|NM_198859.3| Homo sapiens prickly homolog 2 (Drosophila) (PRICKLE2), mRNA
Length=8322

Score = 32.2 bits (16), Expect = 0.19
Identities = 16/16 (100%), Gaps = 0/16 (0%)
Strand=Plus/Minus

```
Query 1 TGAAGCTGCCAGCATG 16
      |||
Sbjct 1979 TGAAGCTGCCAGCATG 1964
```

3.3. *Glycine soja* Bitkisinin insan genomu üzerindeki komplementer dizilerinin bulunması

gso-miR1510b MIMAT0016355

>ref|NM_152324.1| Homo sapiens testis expressed 29 (TEX29), mRNA
gb|BC029889.1| Homo sapiens chromosome 13 open reading frame 16, mRNA (cDNA clone MGC:35169 IMAGE:5170095), complete cds
Length=736

Score = 28.2 bits (14), Expect = 2.5
Identities = 14/14 (100%), Gaps = 0/14 (0%)
Strand=Plus/Plus

Query 1 TGTGTTTTACCTA 14
|||||
Sbjct 7 TGTGTTTTACCTA 20

>ref|NR_048571.1| Homo sapiens glycoprotein M6A (GPM6A), transcript variant 6, non-coding RNA
Length=2865

Score = 26.3 bits (13), Expect = 9.9
Identities = 13/13 (100%), Gaps = 0/13 (0%)
Strand=Plus/Plus

Query 2 GTTGTGTTTTACCTA 14
|||||
Sbjct 1827 GTTGTGTTTTACCTA 1839

gso-miR167a MIMAT0016351

>ref|NM_198859.3| Homo sapiens prickle homolog 2 (Drosophila) (PRICKLE2), mRNA
Length=8322

Score = 32.2 bits (16), Expect = 0.16
Identities = 16/16 (100%), Gaps = 0/16 (0%)
Strand=Plus/Minus

Query 1 TGAAGCTGCCAGCATG 16
|||||
Sbjct 1979 TGAAGCTGCCAGCATG 1964

gso-miR1508a MIMAT0016352

>ref|NM_015155.2| Homo sapiens La ribonucleoprotein domain family, member 4B (LARP4B), mRNA
Length=8546

Score = 28.2 bits (14), Expect = 2.5
Identities = 14/14 (100%), Gaps = 0/14 (0%)
Strand=Plus/Minus

Query 2 AGAAAGGGAAATAG 15
|||||
Sbjct 6965 AGAAAGGGAAATAG 6952

gso-miR482b MIMAT0016354

>ref|NM_020638.2| Homo sapiens fibroblast growth factor 23 (FGF23), mRNA
Length=3018

Score = 28.2 bits (14), Expect = 2.5
Identities = 14/14 (100%), Gaps = 0/14 (0%)
Strand=Plus/Minus

```
Query 1      TCTTCCCTACACCT  14
          |||
Sbjct 1317    TCTTCCCTACACCT  1304
```

gso-miR3522b MIMAT0016360

>ref|NM_032167.3| Homo sapiens sorting nexin 29 (SNX29), mRNA
Length=8172

Score = 30.2 bits (15), Expect = 0.64
Identities = 15/15 (100%), Gaps = 0/15 (0%)
Strand=Plus/Plus

```
Query 1      TGAGACCAAATGAGC  15
          |||
Sbjct 4110    TGAGACCAAATGAGC  4124
```

gso-miR2109 MIMAT0016363

>ref|NM_015135.2| Homo sapiens nucleoporin 205kDa (NUP205), mRNA
Length=6286

Score = 26.3 bits (13), Expect = 9.9
Identities = 13/13 (100%), Gaps = 0/13 (0%)
Strand=Plus/Minus

```
Query 1      TGCGAGTGTCTTC  13
          |||
Sbjct 1984    TGCGAGTGTCTTC  1972
```

gso-miR1507b MIMAT0016358

>ref|XR_171571.1| PREDICTED: Homo sapiens uncharacterized LOC100505635
(LOC100505635),
misc_RNA
Length=3956

Score = 26.3 bits (13), Expect = 9.9
Identities = 13/13 (100%), Gaps = 0/13 (0%)
Strand=Plus/Plus

```
Query 1      TTCATTCCATAC  13
          |||
Sbjct 3394    TTCATTCCATAC  3406
```

3.4. *Nicotiana tabacum* Bitkisinin insan genomu üzerindeki komplementer dizilerinin bulunması

nta-miR159 MIMAT0024639

>ref|NM_170724.2| Homo sapiens polycystic kidney and hepatic disease 1
(autosomal
recessive) (PKHD1), transcript variant 2, mRNA
Length=11604

Score = 32.2 bits (16), Expect = 0.16
Identities = 19/20 (95%), Gaps = 0/20 (0%)
Strand=Plus/Minus

```
Query 2      TTGGATTGAAGGGAGCTCTA  21
           |||||
Sbjct 9985    TTGGATTGGAGGGAGCTCTA  9966
```

nta-miR159 MIMAT0024639

>ref|NM_170724.2| Homo sapiens polycystic kidney and hepatic disease 1
(autosomal
recessive) (PKHD1), transcript variant 2, mRNA
Length=11604

Score = 32.2 bits (16), Expect = 0.16
Identities = 19/20 (95%), Gaps = 0/20 (0%)
Strand=Plus/Minus

```
Query 2      TTGGATTGAAGGGAGCTCTA  21
           |||||
Sbjct 9985    TTGGATTGGAGGGAGCTCTA  9966
```

nta-miR156b MIMAT0024630

>ref|NM_001080414.3| Homo sapiens coiled-coil domain containing 88C
(CCDC88C), mRNA
Length=7573

Score = 30.2 bits (15), Expect = 0.64
Identities = 15/15 (100%), Gaps = 0/15 (0%)
Strand=Plus/Minus

```
Query 2      GACAGAAGAGAGTGA  16
           |||||
Sbjct 7274    GACAGAAGAGAGTGA  7260
```

nta-miR156f MIMAT0024634

>ref|NM_006206.4| Homo sapiens platelet-derived growth factor receptor,
alpha polypeptide
(PDGFRA), mRNA
Length=6574

Score = 34.2 bits (17), Expect = 0.041
Identities = 17/17 (100%), Gaps = 0/17 (0%)
Strand=Plus/Plus

```
Query 2      GACAGAAGAGAATGAGC  18
           |||||
Sbjct 649     GACAGAAGAGAATGAGC  665
```

nta-miR156g MIMAT0024635

>ref|NM_006313.2| Homo sapiens ubiquitin specific peptidase 15 (USP15),
transcript
variant 2, mRNA
Length=8280

Score = 30.2 bits (15), Expect = 0.64
Identities = 18/19 (95%), Gaps = 0/19 (0%)
Strand=Plus/Plus

```
Query 2      GACAGAAGATAGAGAGCAC 20
          |||
Sbjct 1662   GACAGAAGATACAGAGCAC 1680
```

nta-miR156e MIMAT0024633

>ref|NM_001080414.3| Homo sapiens coiled-coil domain containing 88C
(CCDC88C), mRNA
Length=7573

Score = 30.2 bits (15), Expect = 0.64
Identities = 15/15 (100%), Gaps = 0/15 (0%)
Strand=Plus/Minus

```
Query 2      GACAGAAGAGAGTGA 16
          |||
Sbjct 7274   GACAGAAGAGAGTGA 7260
```

3.5. *Oryza sativa* Bitkisinin insan genomu üzerindeki komplementer dizilerinin bulunması

osa-miR156h-5p MIMAT0000625

ref|NM_001080414.3| Homo sapiens coiled-coil domain containing 88C
(CCDC88C), mRNA
Length=7573

Score = 30.2 bits (15), Expect = 0.53
Identities = 15/15 (100%), Gaps = 0/15 (0%)
Strand=Plus/Minus

```
Query 2      GACAGAAGAGAGTGA 16
          |||
Sbjct 7274   GACAGAAGAGAGTGA 7260
```

osa-miR156h-3p MIMAT0022849

ref|NM_001145719.1| Homo sapiens SH2 domain containing 4B (SH2D4B),
transcript variant
2, mRNA
Length=3487

Score = 30.2 bits (15), Expect = 0.53

Identities = 15/15 (100%), Gaps = 0/15 (0%)
Strand=Plus/Minus

Query 2 CTCGCTCCTCTTTCT 16
|||||
Sbjct 559 CTCGCTCCTCTTTCT 545

osa-miR156g-5p MIMAT0000624

ref|NM_001080414.3| Homo sapiens coiled-coil domain containing 88C (CCDC88C), mRNA
Length=7573

Score = 30.2 bits (15), Expect = 0.53
Identities = 15/15 (100%), Gaps = 0/15 (0%)
Strand=Plus/Minus

Query 2 GACAGAAGAGAGTGA 16
|||||
Sbjct 7274 GACAGAAGAGAGTGA 7260

osa-miR156j-3p MIMAT0022850

ref|NM_207372.2| Homo sapiens SH2 domain containing 4B (SH2D4B), transcript variant 1, mRNA
Length=3983

Score = 30.2 bits (15), Expect = 0.53
Identities = 15/15 (100%), Gaps = 0/15 (0%)
Strand=Plus/Minus

Query 2 CTCGCTCCTCTTTCT 16
|||||
Sbjct 1058 CTCGCTCCTCTTTCT 1044

osa-miR156g-3p MIMAT0022848

ref|NM_153252.4| Homo sapiens bromodomain and WD repeat domain containing 3 (BRWD3), mRNA
Length=12793

Score = 30.2 bits (15), Expect = 0.53
Identities = 15/15 (100%), Gaps = 0/15 (0%)
Strand=Plus/Minus

Query 2 CTCACTTCTCTCTCT 16
|||||
Sbjct 11239 CTCACTTCTCTCTCT 11225

osa-miR156f-5p MIMAT0000623

ref|NM_001080414.3| Homo sapiens coiled-coil domain containing 88C (CCDC88C), mRNA
Length=7573

Score = 30.2 bits (15), Expect = 0.53

Identities = 15/15 (100%), Gaps = 0/15 (0%)
Strand=Plus/Minus

```
Query 2      GACAGAAGAGAGTGA 16
          |||
Sbjct 7274    GACAGAAGAGAGTGA 7260
```

3.6. *Phaseolus vulgaris* Bitkisinin insan genomu üzerindeki komplementer dizilerinin bulunması

pvu-miR159a.1 MIMAT0015301

>ref|NM_170724.2| Homo sapiens polycystic kidney and hepatic disease 1 (autosomal recessive) (PKHD1), transcript variant 2, mRNA
Length=11604

Score = 32.2 bits (16), Expect = 0.16
Identities = 19/20 (95%), Gaps = 0/20 (0%)
Strand=Plus/Minus

```
Query 2      TTGGATTGAAGGGAGCTCTA 21
          |||
Sbjct 9985    TTGGATTGGAGGGAGCTCTA 9966
```

pvu-miR482-3p MIMAT0011173

>ref|XR_171360.1| PREDICTED: Homo sapiens uncharacterized LOC101060680, transcript variant 2 (LOC101060680), misc_RNA
Length=1264

Score = 26.3 bits (13), Expect = 9.9
Identities = 13/13 (100%), Gaps = 0/13 (0%)
Strand=Plus/Minus

```
Query 2      CTTCCCAATTCCG 14
          |||
Sbjct 897     CTTCCCAATTCCG 885
```

pvu-miR399a MIMAT0011177

>ref|NM_004920.2| Homo sapiens apoptosis-associated tyrosine kinase (AATK), transcript variant 2, mRNA
Length=5105

Score = 28.2 bits (14), Expect = 2.5
Identities = 14/14 (100%), Gaps = 0/14 (0%)
Strand=Plus/Plus

```
Query 1      TGCCAAAGGAGAGT 14
          |||
Sbjct 4781    TGCCAAAGGAGAGT 4794
```

pvu-miR319c MIMAT0011176

>ref|NM_001134776.1| Homo sapiens kinesin light chain 2 (KLC2),
transcript variant
4, mRNA
Length=2972

Score = 28.2 bits (14), Expect = 2.5
Identities = 14/14 (100%), Gaps = 0/14 (0%)
Strand=Plus/Minus

```
Query 2      TGGACTGAAGGGAG 15
          |||
Sbjct 2417    TGGACTGAAGGGAG 2404
```

pvu-miR166a MIMAT0011175

ref|NM_015221.2| Homo sapiens dynamin binding protein (DNMBP), mRNA
Length=6419

Score = 30.2 bits (15), Expect = 0.64
Identities = 15/15 (100%), Gaps = 0/15 (0%)
Strand=Plus/Minus

```
Query 2      CGGACCAGGCTTCAT 16
          |||
Sbjct 1673    CGGACCAGGCTTCAT 1659
```

pvu-miR2119 MIMAT0011174

ref|NR_003255.2| Homo sapiens TSIX transcript, XIST antisense RNA
(TSIX), antisense
RNA
Length=37027

Score = 28.2 bits (14), Expect = 2.5
Identities = 14/14 (100%), Gaps = 0/14 (0%)
Strand=Plus/Plus

```
Query 1      TCAAAGGGAGTTGT 14
          |||
Sbjct 16980    TCAAAGGGAGTTGT 16993
```

3.7. *Salvia sclarea* Bitkisinin insan genomu üzerindeki komplementer dizilerinin bulunması

ssl-miR397 MIMAT0022518

>ref|NM_001271033.1| Homo sapiens neural precursor cell expressed, developmentally down-regulated 9 (NEDD9), transcript variant 4, mRNA
Length=4103

Score = 28.2 bits (14), Expect = 2.5
Identities = 14/14 (100%), Gaps = 0/14 (0%)
Strand=Plus/Minus

```
Query 2 CATTGAGTGCAGCG 15
      |||
Sbjct 94 CATTGAGTGCAGCG 81
```

ssl-miR398 MIMAT0022519

>ref|NM_013319.2| Homo sapiens UbiA prenyltransferase domain containing 1 (UBIAD1), mRNA
Length=3687

Score = 30.2 bits (15), Expect = 0.64
Identities = 15/15 (100%), Gaps = 0/15 (0%)
Strand=Plus/Plus

```
Query 2 GTGTTCTCAGGTCAC 16
      |||
Sbjct 1623 GTGTTCTCAGGTCAC 1637
```

ssl-miR399 MIMAT0022520

>ref|NM_032449.2| Homo sapiens coiled-coil and C2 domain containing 1B (CC2D1B), mRNA
Length=5670

Score = 28.2 bits (14), Expect = 2.5
Identities = 14/14 (100%), Gaps = 0/14 (0%)
Strand=Plus/Minus

```
Query 2 GCCAAAGGAGAATT 15
      |||
Sbjct 3965 GCCAAAGGAGAATT 3952
```

ssl-miR828 MIMAT0022521

>ref|XM_003960069.1| PREDICTED: Homo sapiens uncharacterized LOC101060226 (LOC101060226), mRNA
Length=13320

Score = 26.3 bits (13), Expect = 9.9
Identities = 16/17 (94%), Gaps = 0/17 (0%)
Strand=Plus/Minus

```
Query 1 TCTTGCTCAAATGAGTA 17
```

```
      |||| |
Sbjct 11597 TCTTCCTCAAATGAGTA 11581
```

ssl-miR156 MIMAT0022506

ref|NM_001080414.3| Homo sapiens coiled-coil domain containing 88C (CCDC88C), mRNA
Length=7573

Score = 30.2 bits (15), Expect = 0.64
Identities = 15/15 (100%), Gaps = 0/15 (0%)
Strand=Plus/Minus

```
Query 2      GACAGAAGAGAGTGA 16
          |||||
Sbjct 7274    GACAGAAGAGAGTGA 7260
```

3.8. *Solanum tuberosum* Bitkisinin insan genomu üzerindeki komplementer dizilerinin bulunması

stu-miR6027 MIMAT0023612

>ref|NM_001217.3| Homo sapiens carbonic anhydrase XI (CA11), mRNA
Length=1686

Score = 28.2 bits (14), Expect = 2.9
Identities = 14/14 (100%), Gaps = 0/14 (0%)
Strand=Plus/Plus

```
Query 1      TGAATCCTTCGGCT 14
          |||||
Sbjct 1249    TGAATCCTTCGGCT 1262
```

stu-miR482c MIMAT0023596

ref|NR_037891.1| Homo sapiens uncharacterized LOC100507391 (LOC100507391), non-coding RNA
Length=3647

Score = 28.2 bits (14), Expect = 2.9
Identities = 17/18 (94%), Gaps = 0/18 (0%)
Strand=Plus/Plus

```
Query 1      TTCCTATTCCACCCATG 18
          |||||
Sbjct 305     TTCCTATGCCACCCATG 322
```

stu-miR482e MIMAT0023601

>ref|NM_145208.2| Homo sapiens methyl-CpG binding domain protein 3-like 1 (MBD3L1), mRNA
Length=748

Score = 26.3 bits (13), Expect = 12
Identities = 13/13 (100%), Gaps = 0/13 (0%)
Strand=Plus/Plus

Query 1 TCTTGCCAATACC 13
|||||
Sbjct 350 TCTTGCCAATACC 362

stu-miR6026 MIMAT0023609
ref|NM_001256424.1| Homo sapiens guanylate cyclase 1, soluble, alpha 2
(GUCY1A2),
transcript variant 1, mRNA
Length=16233

Score = 30.2 bits (15), Expect = 0.74
Identities = 15/15 (100%), Gaps = 0/15 (0%)
Strand=Plus/Minus

Query 1 TTCTTGGCTAGAGTT 15
|||||
Sbjct 12048 TTCTTGGCTAGAGTT 12034

stu-miR6025 MIMAT0023608

ref|XR_171382.1| PREDICTED: Homo sapiens uncharacterized LOC100506651
(LOC100506651),
misc_RNA
Length=3349

Score = 26.3 bits (13), Expect = 12
Identities = 16/17 (94%), Gaps = 0/17 (0%)
Strand=Plus/Minus

Query 1 TACCAACAATTGAGATA 17
|||||
Sbjct 3037 TACCAACAATTAAGATA 3021

3.9. *Vitis vinifera* Bitkisinin insan genomu üzerindeki komplementer dizilerinin bulunması

vvi-miR160a MIMAT0005651

>ref|NM_000334.4| Homo sapiens sodium channel, voltage-gated, type IV,
alpha subunit
(SCN4A), mRNA
Length=7805

Score = 30.2 bits (15), Expect = 0.85
Identities = 15/15 (100%), Gaps = 0/15 (0%)
Strand=Plus/Plus

Query 1 TGCCTGGCTCCCTGA 15
|||||
Sbjct 5692 TGCCTGGCTCCCTGA 5706

vvi-miR159c MIMAT0005650

>ref|NM_170724.2| Homo sapiens polycystic kidney and hepatic disease 1 (autosomal recessive) (PKHD1), transcript variant 2, mRNA
Length=11604

Score = 32.2 bits (16), Expect = 0.21
Identities = 19/20 (95%), Gaps = 0/20 (0%)
Strand=Plus/Minus

```
Query 2      TTGGATTGAAGGGAGCTCTA 21
          |||
Sbjct 9985   TTGGATTGGAGGGAGCTCTA 9966
```

vvi-miR160c MIMAT0005653

>ref|NR_033944.1| Homo sapiens uncharacterized LOC647323 (LOC647323), non-coding RNA
Length=1625

Score = 30.2 bits (15), Expect = 0.85
Identities = 15/15 (100%), Gaps = 0/15 (0%)
Strand=Plus/Plus

```
Query 2      GCCTGGCTCCCTGTA 16
          |||
Sbjct 768    GCCTGGCTCCCTGTA 782
```

vvi-miR156f MIMAT0005645

>ref|NM_198935.1| Homo sapiens synovial sarcoma translocation gene on chromosome 18-like 1 (SS18L1), mRNA
Length=4566

Score = 28.2 bits (14), Expect = 3.4
Identities = 14/14 (100%), Gaps = 0/14 (0%)
Strand=Plus/Minus

```
Query 2      TGACAGAAGATAGA 15
          |||
Sbjct 3812   TGACAGAAGATAGA 3799
```

vvi-miR156d MIMAT0005643

>ref|NM_001080414.3| Homo sapiens coiled-coil domain containing 88C (CCDC88C), mRNA
Length=7573

Score = 30.2 bits (15), Expect = 0.85
Identities = 15/15 (100%), Gaps = 0/15 (0%)
Strand=Plus/Minus

```
Query 2      GACAGAAGAGAGTGA 16
          |||
Sbjct 7274   GACAGAAGAGAGTGA 7260
```

3.10. *Zea mays* Bitkisinin insan genomu üzerindeki komplementer dizilerinin bulunması

zma-miR156e-3p MIMAT0015128

>ref|NM_152795.3| Homo sapiens hypoxia inducible factor 3, alpha subunit (HIF3A), transcript variant 3, mRNA
Length=5867

Score = 28.2 bits (14), Expect = 2.9
Identities = 14/14 (100%), Gaps = 0/14 (0%)
Strand=Plus/Plus

```
Query 2      CTCACTGCTCTCTC 15
          |||
Sbjct 1954   CTCACTGCTCTCTC 1967
```

>ref|NM_022462.4| Homo sapiens hypoxia inducible factor 3, alpha subunit (HIF3A), transcript variant 2, mRNA
Length=5803

Score = 28.2 bits (14), Expect = 2.9
Identities = 14/14 (100%), Gaps = 0/14 (0%)
Strand=Plus/Plus

```
Query 2      CTCACTGCTCTCTC 15
          |||
Sbjct 1890   CTCACTGCTCTCTC 1903
```

zma-miR156d-5p MIMAT0001351

>ref|NM_001080414.3| Homo sapiens coiled-coil domain containing 88C (CCDC88C), mRNA
Length=7573

Score = 30.2 bits (15), Expect = 0.74
Identities = 15/15 (100%), Gaps = 0/15 (0%)
Strand=Plus/Minus

```
Query 2      GACAGAAGAGAGTGA 16
          |||
Sbjct 7274   GACAGAAGAGAGTGA 7260
```

zma-miR156l-5p MIMAT0013973

>ref|NM_001080414.3| Homo sapiens coiled-coil domain containing 88C (CCDC88C), mRNA
Length=7573

Score = 30.2 bits (15), Expect = 0.74
Identities = 15/15 (100%), Gaps = 0/15 (0%)
Strand=Plus/Minus

```
Query 2      GACAGAAGAGAGTGA 16
          |||
```


Sbjct 7274 GACAGAAGAGAGTGA 7260

zma-miR159g-5p MIMAT0015311

>ref|NM_001160423.1| Homo sapiens insulin-like growth factor 2 mRNA
binding protein
1 (IGF2BP1), transcript variant 2, mRNA
Length=8352

Score = 30.2 bits (15), Expect = 0.74
Identities = 15/15 (100%), Gaps = 0/15 (0%)
Strand=Plus/Plus

Query 2 TGCTCCCTTCACACC 16
|||||
Sbjct 4625 TGCTCCCTTCACACC 4639

zma-miR159b-5p MIMAT0015177

>ref|NM_024408.3| Homo sapiens notch 2 (NOTCH2), transcript variant 1,
mRNA
Length=11474

Score = 28.2 bits (14), Expect = 2.9
Identities = 14/14 (100%), Gaps = 0/14 (0%)
Strand=Plus/Minus

Query 1 GTGCTCCCTTCAAA 14
|||||
Sbjct 1064 GTGCTCCCTTCAAA 1051

4. SONUÇ VE TARTIŞMA

Aegilops tauschii bitkisine ait mikro RNA örneği iki tanedir. Her ikisi de incelendiğinde insan genomu üzerindeki komplementer dizileri bulunmuştur.

Citrus clementine, *Vitis vinifera*, *Zea mays*, *Salvia sclarea*, *Phaseolus vulgaris*, *Solanum tuberosum*, *Oryza sativa* bitkisine ait mikro RNA örneklerinden beş tanesi seçilmiştir. Bu veriler incelendiğinde insan genomu üzerindeki komplementer dizileri bulunmuştur.

Glycine soja bitkisine ait mikro RNA örneklerinden seçilen yedi tane mikro RNA incelendiğinde insan genomu üzerindeki komplementer dizileri bulunmuştur.

Nicotiana tabacum bitkisine ait mikro RNA örneklerinden seçilen altı tane mikro RNA incelendiğinde insan genomu üzerindeki komplementer dizileri bulunmuştur.

Çeltik bitkisi pirinç tanelerinde bol miktarda bulunan mir168a isimli miRNA2'nin Çin'deki bazı deney grubunda yer alan insanların kan serumlarında ve dokularında yüksek oranlarda beslenme yoluyla geçebildiği gösterilmiştir. LDLRAP1 mRNA'sına bağlanabildiği ve bunun sonucunda da plazmadaki LDL miktarını azaltmaya yol açtığı gösterilmiştir. Bu bulgu besin

yoluyla dışarıdan alınan bitki miRNA'larının memelilerdeki hedef genlerin anlatımını değiştirebileceğini ve fizyolojik etkileyebileceği gösterilmiştir. (22)

Bu projede benzer etkiye sahip olabilecek farklı bitki türlerindeki aday miRNAların belirlenmiştir. Bununla birlikte bu çalışmada elde edilen aday miRNA'ların deneysel olarak besin alımıyla kana ve dokulara geçip geçmediği ve hedef genlerinin anlatımlarını değiştirip değiştirmediği test edilerek bulunmalıdır.

TEŞEKKÜR

Çalıştay koordinatörü: Prof. Dr. Mehmet AY' a, sunuları ve çalışmalarıyla bizleri aydınlatan danışmanlarımız Prof. Dr. Gülcan GÜLERYÜZ'e , Doç. Dr. Kemal Melih TAŞKIN'a, Fatih Sezer'e , Teknisyen Merve Hız'a, tüm çalıştay ekibine ve Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi' ne teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

1. **E., Arcan.** Moleküler Biyoloji Drs Notu. [Çevrimiçi] 2011. [Alıntı Tarihi: 9 Şubat 2013.] <http://www.istanbul.edu.tr/fen/notlar/1332137325.pdf>.
2. *Introduction of a chimeric chalcone synthase gene into petunia results in reversible cosuppression of homologous genes in trans.* . **Napoli C, Lemieux C, Jorgensen R.** 279–289., s.l. : Plant Cell , 1990, Cilt 2, .
3. *"The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14."* **Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V.** 843-854. , s.l. : Cell , 1993, Cilt 75. doi:10.1016/0092-8674(93)90529-Y. PMID 8252621.
4. *RNA interference ve hastalıkla ilişkisi.* **Hız, M.M.** s.l. : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Doktora Semineri, 2011.
5. *MicroRNAs in cell proliferation, cell death, and tumorigenesis.* **Hwang H.W., Mendell J.T.** 776-780, s.l. : British Journal of Cancer, 2006, Cilt 94.
6. *SiRNA against Fabp5 induces 3T3-L1 cells apoptosis during adipocytic induction,* . **Ma ., Ren X., Han P., Hu S., Wang J., Yin J.,** s.l. : Mol Biol Rep, 2010. DOI 10.1007/s11033-010-0059- .
7. *RNAi, heterochromatin and the cell cycle.* **Kloc A., Martienssen R.,** 10, s.l. : Trends in Genetics , Cilt 24.
8. *Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference.* **Bernstein E, et al.** 363–366., s.l. : Nature, 2001, Cilt 409.
9. *Why do miRNAs live in the miRNP?* **Schwarz DS, Zamore PD.** 1025-1031, 2002, Cilt 16.

10. *The Argonaute family: tentacles that reach into RNAi, developmental control, stem cell maintenance, and tumorigenesis.* **Carmell MA, et al.** 2733–2742., s.l. : Genes Dev. , 2002, Cilt 16.
11. *Argonaute2 is the catalytic engine of mammalian RNAi.* **Liu J, et al.** 1437–1441, s.l. : Science 2004; 305, 1437–1441, 2004, Cilt 305.
12. *Crystal structure of Argonaute and its implications for RISC slicer activity.* **Song JJ, et al.** 1434–1437, s.l. : Science , Cilt 2004.
13. *Antisense Technologies Improvement Through novel Chemical Modifications Biochemistry,* . **Kurreck J., ,** 1628- 1644, s.l. : European Journal of , 2003., Cilt 270, .
14. *On Future's Doorstep: RNA Interference and The Pharmacopeia of Tomorrow,* . **Gewirtz A.M.** 3612- 3614,, s.l. : The Journal of Clinical Investigation, , 2007, Cilt 117 (12), .
15. **RNA Interference.** s.l. : Dharmacon Applications Handbook and Catalog,, 2005/2006.
16. **29. Allarakhia MA., 2007, A Knowledge Perspective of Strategic Alliances and Management of Biopharmaceutical Innovation: Evolving Research Paradigms Phd Thesis of University of Waterloo, Department of Management Sciences ve Waterloo, Ontario, Canada,,**
17. *MicroRNAs: Target Recognition and.* **Bartel, David P.** s.l. : Cell. DOI 10.1016/j.cell.2009.01.002.
18. Bioinformatics. *ncbi.* [Çevrimiçi] 25 2 2010. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>>.
19. *Biyoinformatik ve biyoistatistik.* **Erdem Karabulut, Ergun Karağaoğlu.** 162-170, Ankara : Hacettepe Tıp Dergisi , 2010, Cilt 41.
20. *Biyolojide Buluşların Anahtarı: Biyoinformatik.* **GÜLTEKİN, Visam.** 32, s.l. : Ekoloji Magazin, 2011.
21. *miRBase: integrating microRNA annotation and deep-sequencing data.* **Griffiths-Jones, Ana Kozomara and Sam.** 152-157, 2011, Cilt 39. 10.1093/nar/gkq1027.
22. *Exogenous plant MIR168a specifically targets mammalian LDLRAP1: evidence of cross-kingdom regulation by microRNA.* **Lin Zhang, Dongxia Hou, Xi Chen, Donghai Li, Lingyun Zhu, Yujing Zhang, Jing Li, Zhen Bian, Xiangying Liang, Xing Cai, Yuan Yin, Cheng Wang, Tianfu Zhang, Dihan Zhu, Dianmu Zhang, Jie Xu, Qun Chen, Yi Ba, Jing Liu, Qiang Wang, Jianqun Chen, Jin Wang, Meng.** s.l. : Cell Research, 2011. 10.1038/cr.2011.158.

GRUP ÜYELERİNİN ÖZGEÇMİŞLERİ

Tuğba Avcu (Dokuz Eylül Üniversitesi)

1984 yılında Trabzon'da doğdu. İlköğretimini Necatibey İlköğretim Okulu'nda tamamladıktan sonra liseyi Danişment Gazi Anadolu Lisesi'nde okudu ve üniversite eğitimini İzmir Dokuz Eylül Üniversitesi Biyoloji Öğretmenliği Bölümü'nde tamamladı. Rize Çayeli Vakıfbank Lise'sinde öğretmen olarak çalışmaktadır.