



Bioinformatics Analysis of Fugu (*Fugu rubripes*) Catalase (*cat*) Gene

Mehtap Bayır^{1,a,*}, Gökhan Arslan^{2,b}

¹Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agriculture, Atatürk University, 25030 Erzurum, Turkey

²Department of Processing Technology, Faculty of Fisheries, Atatürk University, 25030 Erzurum, Turkey

*Corresponding author

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><i>Research Article</i></p> <p>Received : 29/01/2020 Accepted : 03/06/2020</p> <p>Keywords: Fugu Bioinformatics Model organism In silico analysis Gene Bank</p>	<p>In this study, bioinformatics analysis of fugu (<i>Fugu rubripes</i>) catalase (<i>cat</i>) gene was performed. Molecular biology science is developing rapidly in parallel with the increasing importance of bioinformatics, thanks to the developed techniques in recent years. In this bioinformatics-based study which enables the effective identification and characterization of genes in living organisms using online genome databases and statistics and storage, organization and sharing of the ever-increasing genetic data we designed the conserved gene synteny and gene structure and detected the identity-similarity ratios between fugu and the other telosts and tetrapods. NCBI-GeneBank, EMBL, ENSEMBL and UNIPROT databases have been used for all these bioinformatics studies. Bioedit and Mega programs were used to perform the analysis and evaluate the data obtained from all these databases. In silico analysis such as the identification and characterization of fugu <i>cat</i> gene, exons-introns organization, phylogenetic tree and gene synteny were completed in this study and presented with tables and figures.</p>

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 8(6): 1413-1417, 2020

Balon Balığı (*Fugu rubripes*)’nda Katalaz Geninin Biyoinformatik Analizleri

MAKALE BİLGİSİ	ÖZ
<p><i>Araştırma Makalesi</i></p> <p>Geliş : 29/01/2020 Kabul : 03/06/2020</p> <p>Anahtar Kelimeler: Balon balığı Biyoinformatik Model canlı Siliko analiz Gene Bank</p>	<p>Bu çalışmada sucül bir model organizma olan balon balığı (<i>Fugu rubripes</i>) katalaz (<i>cat</i>) geninin biyoinformatik analizleri yapılmıştır. Moleküler biyoloji bilimi, son yıllarda biyoinformatik bilimene verilen önemin artmasına paralel olarak hızla gelişme göstermektedir. Her geçen gün artan genetik verilerin, saklanması, depolanması, organizasyonunu ve paylaşılmasını kolaylaştıran ve online genom veri tabanları ile istatistik bilimini kullanarak canlı organizmalardaki genlerin etkin şekilde tanımlanmasını ve karakterizasyonunu sağlayan biyoinformatik temelli olan bu çalışmada balon balığı katalaz geninin dizi bilgileri, diğer canlılarla olan filogenetik ilişkisi ve bu ilişkinin yüzde olarak ifade edildiği özdeşlik- benzerlik oranları tespit edilmiş, yine biyoinformatik çalışmalar için büyük önem arz eden korunmuş gen sentenisi dizayn edilmiştir. Tüm bu çalışmalar için NCBI-GenBank, EMBL, ENSEMBL ve UNIPROT veri tabanları kullanılmıştır. Tüm bu veri tabanlarından ulaşılan verileri değerlendirmek ve analizleri gerçekleştirmek için, Bioedit ve Mega programlarından yararlanılmıştır. Balon balığı <i>cat</i> genin tanımlanması, genin ekson ve intronlarından oluşan yapısı, filogenetik ağaç ve gen sentenisi gibi in-siliko analizler bu çalışmada tamamlanmış ve tablo ve şekiller ile sunulmuştur.</p>

^a mehtap.bayir@atauni.edu.tr

^b <https://orcid.org/0000-0002-7794-1058>

^a gokhan.arslan@atauni.edu.tr

^b <https://orcid.org/0000-0002-8634-8598>



Giriş

Balon balığı (*Fugu rubripes*), omurgalılar içerisinde en küçük genoma sahip olan, dolayısıyla genomik çalışmaların yapılmasına kolaylık sağlayan bir canlı olması nedeniyle, genetik ve gelişimsel biyoloji çalışmaları için ideal bir model organizmadır. Balon balığı özellikle transplantasyon ve mikroenjeksiyon çalışmalarında kullanılmaktadır (Brenner ve ark., 1993; Crnogorac-Jurcevic ve ark., 1997; Yamanoue ve ark., 2009; Uji ve ark., 2011). Diğer omurgalılara kıyasla genomik çalışmalar için daha fazla avantaja sahiptir. Çünkü balon balığının genom boyutu 400Mb olup, insan genom boyutuna (3000 Mb) kıyasla oldukça küçüktür (Watabe ve Ikeda, 2006). Balon balığı genomunun, teleost spesifik tüm genom duplikasyonu (tsWGD) nedeniyle akciğerli balıklardan ve keski solungaçlılardan daha fazla gene sahip olduğu bilinmektedir (Van de Peer, 2004). Genlerin saptanmasını ve analizini kolaylaştıran bir faktör olan küçük genom boyutu, diğer omurgalılar gibi düzenli sekanslara sahiptir ve karşılaştırılabilir veriler elde etmek için daha az çalışma gerektirir.

Katalaz, diğer tüm enzimler gibi protein yapısındadır ve katalaz enzimi hayvanlarda, bitkilerde ve mikroorganizmalarda bulunur. Bu enzimin en önemli görevi, hidrojen peroksidi hücrelerden uzaklaştırmaktır (Master ve Holmes, 1977; DeDuve, 1983; Çimen ve ark., 2005). Yani katalazın biyolojik sistemlerde en önemli fizyolojik rolü, zararlı hidrojen peroksidin suya ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizlemektir (Limon-Pacheco ve Gonsebatt, 2009). Bitkilerde (McClung, 1997), bakterilerde (Storz ve Tartaglia, 1992) ve memelilerde (Bryant ve Wilson, 1995) katalaz geninin yapısı hakkında yeterli bilgi olmasına rağmen, sucül model organizmalar da dahil olmak üzere omurgalılarda bu genin biyoinformatiği ve işleyişi hakkında hala yeterli bilgi yoktur. Biyoinformatik, farklı türlerdeki biyolojik verilere ulaşım kolaylığı sağlayan multidisipliner bir bilim dalı olup, aynı zamanda bu bilgileri verimli bir şekilde kullanmaya olanak sağlayan bilgilerin rasyonel yönetimi için gereksinim duyulan bilgisayar yazılımlarının geliştirilmesini sağlayan ve bu sayede büyük veri kümeleri arasındaki bağlantıları biyoistatistiksel yöntem ve algoritmalar kullanarak hesaplamalar vasıtasıyla değerlendiren bilgi teknolojisi olarak nitelendirilebilir (Baxevanis, 2001; Atalay, 2002). Bu alanda yapılan çalışmaların hedefi, biyomoleküller hakkında çeşitli analiz yöntemleri oluşturmak ve heterojen data kaynaklarını birleştirilerek değerlendirmeler yapmaktır (Luscombe ve ark., 2001). Proteinlerin sekonder yapıları üzerindeki çalışmalar 1950'li yıllarda başlamış olup, bu tarih aynı zamanda biyoinformatik için de başlangıç kabul edilmektedir. Ancak asıl biyoinformatik biliminin başlangıcı, bilgisayarla moleküler grafiklerin çiziminin Scientific American Dergisi'nde yayımlanma tarihi olan 1966 olarak kabul edilmiş ve "Biyoinformatik" terimi kullanılmaya başlanmıştır (Hogeweg, 2011; Çapan, 2019). Moleküler çalışmalarda, genetik verilerin analizinde yeni yöntemler geliştirilerek etkin bir databaz olan NCBI (National Center for Biotechnology Information) 1988 yılında kurulmuştur. Biyoinformatik, 2001 yılında ise insan genom projesinin (İGP) izahı ile hız kazanmıştır (Hogeweg, 2011). İGP'nin dışında diğer canlı türlerinde de genom çalışmaları yürütülmesi ile pek çok canlı türün gen dizilimleri belirlenmiştir (Karabulut ve ark., 2010). Canlı

organizmalardaki genlerin tanımlanmasını ve karakterizasyonunu sağlayan biyoinformatik temelli olan bu çalışmada, önemli bir genomik model organizma olan balon balığının *cat* geninin diğer organizmalarla olan filogenetik ilişkisi belirlenmiş, karakterizasyonu ve gen tanımlanması yapılmıştır.

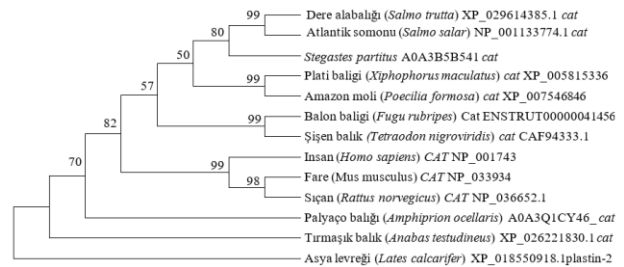
Materyal ve Yöntem

Biyoinformatik Analizler

Balon balığı *cat* geninin karakterizasyonu ve tanımlanması amacıyla, bu gene ait cDNA sekansı ensembl veri tabanından bulunarak NCBI veri tabanında, BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) işlemi yapılmıştır. Balon balığı *cat* genin NCBI erişim numarası XP_003967521.1 olan, 527 amino asit kodlayan transkripti olan ENSTRUT00000041458.3 kullanılmıştır. Balon balığı *cat* genin bulunduğu kromozom üzerinde yer alan diğer korunmuş genlerin, önemli bir model organizma olan zebra balığı (*Danio rerio*) ve insan (*Homo sapiens*) ile ortolojisini doğrulamak amacıyla, adı geçen türler arasındaki korunmuş gen sentenisi dizayn edilmiştir (Şekil 1). Balon balığının diğer organizmalarla filogenetik ilişkisini belirlemek için, CLUSTALW (Thompson ve ark., 1994) BioEdit programı kullanılarak protein sekanslarının dizilemesi yapılmış ve daha sonra MEGA6 (Tamura ve ark., 2013) programı kullanılarak maksimum benzerlik metodu ile filogenetik ağaç oluşturulmuştur (Şekil 2). Ayrıca ensembl veri tabanından balon balığı *cat* geni cDNA'sı na ulaşıldıktan sonra, kodladığı aminoasitler, 5' ve 3' çevrilmeyen bölgeler, genin intron ve eksonları, transkripsiyonda önemli rol üstlenen TATA ve poli A dizilimleri tespit edilerek, gen yapısı oluşturulmuştur (Çizelge 1).

	Balon balığı (<i>Fugu rubripes</i>)	İnsan (<i>Homo sapiens</i>)	Zebra balığı (<i>Danio rerio</i>)
<i>cat</i>	9. kromozom 11,23	11. kromozom 34,43	25. kromozom 7,49
<i>peak1</i>	9. kromozom 11,21	15. kromozom 77,10	25. kromozom 7,34
<i>ifim5</i>	9. kromozom 11,26	11. kromozom 0,29	25. kromozom 7,50
<i>cdkn1c</i>	9. kromozom 11,32	11. kromozom 2,88	25. kromozom 7,51
<i>tnem168b</i>	9. kromozom 11,34	7. kromozom 112,7	25. kromozom 21,75
<i>hmg20a</i>	9. kromozom 11,18	15. kromozom 77,42	25. kromozom 7,49
<i>ptdss2</i>	9. kromozom 11,34	11. kromozom 0,44	25. kromozom 7,53

Şekil 1. Balon balığı *cat* geni korunmuş gen sentenisi
Figure 1. Conserved gene synteny of *fugu catalase* gene



Şekil 2. Balon balığı *cat* geninin diğer omurgalılarla filogenetik ilişkisi
Figure 2. Phylogenetic tree of *fugu catalase* gene

Çizelge 1. Balon balığı (*Fugu rubripes*) katalaz geni nükleotit sekansı

Table 1. Nucleotide sequence of fugu catalase gene

```

.....
S gaatgttataactggcccttaagggagtgatattgtgtatacaaaaaaacctogaa
gtcaattgttttttttgaacaaactgaaagtaggaagagtgtaaaattttatttaaacactaaat
tcaegtaaaaaaaccaagataggtgtttttttattceegctecacctceegccttcaaceaga
tgagaaatgggtcaaatceegcctcaacagcaatcaagaaagaggagtgtaagggagge
ggggcctatgggtgaggtcaaggaagaaaTATAagactccaggtgcagaataaacgca
+1
TATATA
TATATA
TATA Kutusu
TTTCTCCCAACTTTGTGAAGCTTCGGCTCCCGAGCCGTCGACATGGCTGACAAAGAG
-M-A-D-K-R-
ACAAGGCGCCGATCAGATGAGACTGCGAAGGAGACTGGCTGATCAGTgggg'N1884'
D--K-A--T--D--Q--M--K--L--W--K--E--S--R--G--Y--Q-
aaacagCGCCCTGACATCCTGACCACGGGGGCTGGCCATCCCATGGGGACAAACTGAATC
-R-P-D-I-L-L-T-T-G-G-G-H-D-I-G-D-D-K-L-N-
TGCAGACAGCAGGACCCCAAGGGTCCCTGCTGCTCCAAAGATGTGGTCTTCCACAGACAGA
L--Q--T--A--C--P--K--E--H--V--G--K--T--T--P--I--A--V--R--F--S--T-
TGGCCCACTTTGATCGTGAAGCAATCCAGAGAGACTGCTCCAGCCCAAGGGGCGAGTg
M--A--H--F--D--R--E--R--I--P--E--R--V--V--H--A--K--G--A--
ag'N322'tccagCAGCCCTTTGGCTACTTTGAGGTGACTCATGACATCCACCCGATTTGC
G--A--F--G--Y--F--E--V--T--H--D--I--T--R--Y--C-
AAGGCCAAATTTGTAACATGTCGGCAAGACACGGCCATCGCTGCTCCCTCTCCACACC
-K-A-K-L-F-E-H-V-G-K-T-T-T-P-I-A-V-R-F-S-T-
GTGGTgag'N119'ttcagGTGGCAATCGGGCTCAGCTGACACCGTCCGAGATCCAGC
AGGGGGG
-V--
AGCCCTTTCAGTCAAGTTTACACTGAAGGGCACTGGGACCTGACTGGCAACACAC
--G--F--A--V--K--F--Y--T--E--E--G--N--W--D--L--T--G--N--N--T
CCCCATTTCTCATCAGGACGGCCCTGTTGTgag'N81'tgcaagTTCCCGCTTCAT
--P--I--F--F--I--R--D--A--L--L-
-F-P--S--F--I-
CCACAGCAGAGGCGAAACCCCAACCCACATGAAGACCCCTGACATGGTGTGGGACTT
-H-T-Q-K-R-R-N-P-Q-T-T-H-M-K-D-D-P-D-M-V-W-D-F
GTGAGCCTGAGCCGGAGAGTCTGCATCAGtate'N232'tgcaagGTGCTTTTCATGTT
--W--S--L--R--R--E--S--L--H--Q-
-V--S--F--M--F-
CAGCGATCGGGATGGCTGATGGCTACCGCCCACTGAATGGCTACGGCTCCCAACACTT
--S--D--R--G--L--P--D--G--Y--R--H--M--N--G--Y--G--S--H--T--F
CAAACCTGCAATGCCAAGGGCAATGTGTCTACTGCAAGTCCACTTCAAGtctg'N65'
--K--L--V--N--A--K--G--E--C--V--Y--C--K--F--H--F--K-
tatagACTGATCAAGGAATCAAGAACTGTCCCTGGAGGAGGAGGGCCCTGGCCCTCG
-T-D-Q-G-I-K-N-L-S-V-E-E-A-G-L-R-D-A--S-
CCAACCGGACTATGCCATGGAGCCTCTTAAATGCCATGCCAATGGTAACATCCCAT
A--N--P--D--Y--A--I--G--D--L--F--N--A--I--A--N--G--N--Y--P--
CTGCACTTCTACATCCAGCTCATGACTTTTACAGAGCCGAGAAATTCACCTTCAACC
S--W--T--F--Y--I--Q--V--M--T--F--E--Q--A--E--K--F--H--F--N--
CCTTTGATCTTACCAAGtate'N186'tttagGTTTGGTCCGATAAAGAAATACCCCTCG
P--F--D--L--T--K-
-V--W--S--H--K--E--Y--P--L-
ATCCCACTGGTAAATGTCTCAACAGGACCCAGTCAACTACTTTCCACAGTGGAG
-I--P--V--G--K--M--V--L--N--R--N--P--V--N--Y--F--A--Q--V--E-
CAGATGGCCCATGACCCCAACACTGACCCAGCCAGCCATGAGCCAGCCCTGACACCGA
-Q--M--A--H--D--P--S--N--M--P--P--G--I--E--P--S--P--D--K--M-
CTGCAgtag'N85'tttagGCCCCCTTCTCTTATCCGGACAGCCATGACACCGGA
-L-L-Q-
-G--R--L--F--S--Y--P--D--T--H--R--H--R-
CTGGGGCCAACTATCTGCAGATCCCACTGACCTGCCCTCAGAGCCCTGTGGCCACT
-L--G--A--N--Y--L--L--Q--I--P--V--N--C--P--Y--R--A--R--V--A--N-
CACCAGCCGATGCTCCGATGTCATGCTGACAACTGACAGCCAGGttag'N86ctagTGGAGC
-Y--Q--R--D--G--P--M--C--M--S--D--N--Q--
G--G--A-
TCCAACTACTTCCCAACAGCTTCAAGCCGCCAGGATCCAGCCCTCAGTCCGCTGGAGTC
--P--N--Y--Y--P--E--N--F--S--A--P--E--I--Q--P--Q--C--V--E--S-
AAAGTTCAAGGTGTATCCCGATGTCGGCCCTTACACAGTTCAGATGAGGATAATGTGAC
--K--F--K--V--Y--P--D--V--A--R--Y--N--S--S--D--E--D--N--V--T-
TCACTg'N111'ttcagGTTGCACTTCTCACTGAGGCTGCTCAATGATGAGGAGCC
AGGGGG
-Q-
-V--R--T--P--Y--T--E--V--L--N--D--E--R-
CCAGCGACTCTGTGAGACTTTCAGAGTCCCTGAAGGGGCTCAGCTTCTCATCCAGAA
--Q--R--L--C--E--N--F--R--A--G--S--L--K--G--A--Q--L--F--I--Q--K-
AGCCATGttag'N292'tgcagGTTGAGAACTTGAAGGCAATCCATCCAGACTACGCCA
--R--M-
-V--E--N--L--K--A--I--H--P--D--Y--A--
CCAGCTCCAGATAATTTCCGACACTCAAGCAGCCAGCCAGAGttag'N116'gg
S--R--V--Q--I--F--L--D--K--Y--N--E--E--A--E--K-
caagAATGCTCAGCTGCGGCTGACACCCGTCACAGGACTCTGCCGCTGGCTGATCTCTCC
-N--A--H--V--R--V--Y--T--R--P--G--A--S--A--V--A--S--S-
AAGATGCAgtagatttaaaatttccacagatggcgtctctgcaagtgaaacaacccgaaatg
-K-M--+-
caattatccccactgtaataaacagtaaacaggaagcctgttaactgctcaactgaaacaaac
etaatccgttcactgtagtattgtaaaataatttatgtagagatgaaacacatctogaaa
gocaaatttttttttggaaagattgtgagtttttggcagatctctgctgtgttt
caagaagtttatacaagaaactcctcctggctcctcaagaaacactcaagtctattttat
tgtctataaaatgggaatttcaggaagctgtgaaattgatttcccaagaaacaagaaatcc
ctcattgtttgtttataaaattaaagtagaacgtatttaaggactgcaaccaactgg
ctgtgggcaagttattgactatttctgcaattctgcaattctgcaattctgcaattctgcaatt
gtgtgtaataaagttgtgtttgtaggag 37

```

*Eksonlar büyük harflerle, intronlar, 5' upstream dizilimi ve 3'downstream dizilimi ise küçük harflerle gösterilmiştir. Intronlar mavi rankle ve küçük harflerle gösterilmiş olup, N'tabloda gösterilen kısımlar hariç, intronların geriye kalan nükleotit sayısını ifade etmektedir. Transkripsiyonun başlama noktası +1 ile belirtilirken, TATA kutusu ve poli adenilasyon sinyal dizilimi sarı boyanmış ve büyük harflerle gösterilmiştir. Asterisk ile gösterilen stop kodununun balon balığı *cat* geninde TGA dizilimine sahiptir.

Bulgular Ve Tartışma

Biyoenformatik Analizler

Biyoenformatik temelli çalışmalarda, genellikle büyük ölçekli biyolojik verilerin elde edilmesi ve bu verilerin analizleri için hem bilgisayar bilimleri hem de biyoistatistik gibi bilişim teknikleri kullanılır ve ve bu teknikler biyolojik verilere uygulanır. Dolayısıyla biyoinformatik alanında yapılan çalışmalarda genellikle biyomoleküller üzerine çeşitli analiz yöntemlerinin geliştirilmesi, homojen olmayan veri kaynaklarının toplanması ve organizasyonu hedeflenir (Luscombe ve ark., 2001). Bu çalışmada genetik çalışmalarda model canlı olarak kullanılan ve bu bakımdan önemli bir yeri olan balon balığının, yine fizyoloji çalışmalarının temel taşlarından biri olan antioksidan enzimlerden biri olan katalaz enzim geninin in siliko analizleri yapılmıştır. Canlılarda normal şartlarda, antioksidan seviyeleri ile reaktif oksijen üretimi dengede iken, bu dengenin strese maruz kalma sonucunda bozulması ile serbest radikallerin zararlı etkisi ortaya çıkmakta ve oksidatif stres kaynaklı hastalıklar oluşmaktadır (Scandalios, 1993). Antioksidan enzim genleri stresle ilişkili genler oldukları için (Iwama ve ark., 1999), bu genlerin karakterize edilmesi ve tanımlanması; hem su ürünleri çalışmaları için büyük önem arz etmekte hem de balon balığının model canlı olması dolayısıyla diğer omurgalılar için önemli genetik bilgileri sağlamaktadır. Buna ilaveten, oksidatif stresin, pek çok hastalığın ya sebebi olduğu ya da hastalığa etki ettiği bilinen bir gerçektir (Halliwell ve ark., 1991; Gutteridge, 1993; Poljsak ve ark., 2013). Dolayısıyla bu çalışmada tüm bu veriler doğrultusunda balon balığı (*F. rubripes*) *cat* geninin hem karakterizasyonu ve tanımlanması yapılmış hem de diğer biyoinformatik analizleri tamamlanarak bilim dünyasına sunulmuştur. Çalışmada öncelikle Ensemble, Uniprot ve NCBI veritabanları kullanılarak *cat* geninin biyolojik verilerine ulaşılmış, daha sonra bu verileri değerlendirebilmek için bilgisayarlı algoritmalar olan BLOSUM62 matris program, BioEdit yazılımı ve MEGA6 programı kullanılmış ve istatistiksel analizler yapılmıştır. Ensembl genomik veri tabanından, balon balığının *cat* genine ait cDNA sekansına ulaşılmış ve bu genin 527 amino asit kodlayan 13 eksona ve bu eksonlar arasına yerleşmiş bulunan, gt-ag kuralını ("gt" nükleotitleri ile başlayıp "ag" nükleotitleri ile sonlanma) takip eden 12 introna sahip olduğu tespit edilmiş ve bu organizasyon Çizelge 1'de gösterilmiştir.

Bir proteinin in siliko çalışmalarının yapılması esas olarak homoloji, olası etkileşimler ve translyasyon sonrası değişiklikler ile hücre altı lokalizasyonu yoluyla işlevinin tahmin edilmesini içerir (Yavuz ve Öztürk, 2017).

Yüksek verimli sekanslama teknolojilerinin mevcudiyetinin, bilim insanlarının genom tarafından kodlanan genlerden tahmini proteinlerle çalışmasını sağladığını belirtmek önemlidir. Protein Veri Bankası dahil birçok proteine özgü veritabanı vardır (Berman ve ark., 2002; Yavuz ve Öztürk, 2017) ve yapılan bu çalışmada *Fugu rubripes*'in *cat* geninin in siliko analizlerinin gerçekleştirilebilmesi için adı geçen veri tabanlarından yararlanılmıştır.

Balıklar farklı biyomedikal araştırmalar için büyük önem teşkil eden model organizmalar olarak kullanılırlar (Mohomed ve ark., 2018). Balon balığı *cat* geni ile medaka,

zebra balığı, fare ve insan *cat/CAT* gen ortolojilerini görmek için, bu organizmalara ait *cat* geni protein dizilimleri Bioedit programı vasıtasıyla hizalanmış ve özdeşlik-benzerlik oranı yine aynı program yardımıyla hesaplanmıştır. Özdeşlik-benzerlik oranlarının medaka ile %88-94, zebra balığı ile %83-92, fare ile %80-88, insan ile %76-85 gibi yüksek oranlarda olduğu görülmüştür (Çizelge 2).

Çizelge 2. Balon balığı (Bb) ile medaka (Me) zebra balığı (Zb), fare (Fa) ve insan (In) *Cat* protein sekansları arasındaki özdeşlik-benzerlik yüzde oranları

Table 2. Identity and similarity table between *fugu* (Bb) and medaka (Me) zebrafish (Zb), Mouse (Fa) and Human (In) *Cat* protein sequences

Bb Cat 1	MADKRDKATDQMLWKSRCYQRPDILITGCGHFDIGKLNLTACPEGDFLLVQVVPTDE		
Me Cat 1	..EN..T...T..N..SRK..V...A...R.....		
Zb Cat 1	..D.E.S...C.S...V...A.V...AM...R.....		
Fa Cat 1	..S.S..P.S...Q...Q.AS...V...N...IM...SR.....		
In Cat 1	..S..P.S...QH...Q.AA.EA.V...A.N.V...VI.V..R.....		
Bb Cat 61	MAHFDREIRIPERVVHAKGACAFYFEVTHDITRYCKAKLFEHVCKTTPIDIAVRFSTVGGES		
Me Cat 61V...I.....A...A.....		
Zb Cat 61S.V...I.....A.A.....		
Fa Cat 61S.V...I.R.....T.....		
In Cat 61K.S...V...I.K.....A.....		
Bb Cat 121	GSADTVRDPGRFAVFEYTEECNWDLTGNNIPDIFIRDALLFPSPFIHQKRNPDQTMEDPD		
Me Cat 121D.....V.....V.....		
Zb Cat 121	..S.....D.....T.....S.....L.....		
Fa Cat 121D...V.....I.....S.....L.....		
In Cat 121D...V.....FI.....S.....L.....		
Bb Cat 181	MVWDFWLSRPSLEHQVSMFSDRGLPDGCRHMGNYGSHTFKLVNAKGCVCVYCFHFQDQ		
Me Cat 181C.....L.....D.DR.....Y.....		
Zb Cat 181L.....I.....Q.QP.....Y.N.....		
Fa Cat 181L.....I..H.....D.A.....Y.....		
In Cat 181L.....I..H.....N.A.....Y.....		
Bb Cat 241	GIKNLSVEEACRLASANDPYAIGDLFNATANGNYPSTWTFYIQVMTPEQAEKPHFNPFDLT		
Me Cat 241EH...T.....Q.....		
Zb Cat 241	..IP...D...ATD...S.R..Y...F.....NWKW.....		
Fa Cat 241P.G...QSD...GLR.....KE..T.P.....		
In Cat 241D.A..SQSD...C.R.....T.K.....N...T.P.....		
Bb Cat 301	KVWSHKEYDLPVCGMVLNRPNVYFAQVEQMAHDPSNMPDGEDSPDKMLQGRFLSYPD		
Me Cat 301F.....R.....E...L.F.....		
Zb Cat 301F.....RF.....E...L.F.....		
Fa Cat 301	..P..D.....L..K.....E...F.....A.....		
In Cat 301	..P..D.....L.....E...I.F.....A.....		
Bb Cat 361	TERHRLGANLQIPVNCYRVARVANYQRDQPMCSNDGQCCAPNYNPSFSAPEIQPCQVE		
Me Cat 361F.T.....F.....T...F.....		
Zb Cat 361L.....T.....H.....DV..RFL.....		
Fa Cat 361P.....H.....H.....Q..RSAL.....		
In Cat 361P..H.....Q.....C...Q..SAL.....		
Bb Cat 421	SKPKVYVDVARYNSDSDENVTVQRTFYTEVNDDEERQLCENFACSLKGAQLFIQRHME		
Me Cat 421	..Q.S.....A.....C.F.K...ED...Q.M...E.....		
Zb Cat 421	..C.S.....A.D.....F.Q...EA..E...Q.M..H.....Q		
Fa Cat 421	HSVQCATV..K.F..AM.....K...E...K...I..H..D...KA.K		
In Cat 421	HSIQYSGE.R.F.TAND.....A.VN...E.Q.K...I..H..D...I...KA.K		
		Ördeşlik (%)	Benzerlik (%)
Bb Cat 481	NLKAHFDYASRVQIFLDKYNEEAERNAHVYVYTRPGASAVAASSEM-	100	
Me Cat 481	..V...GN...TL...AQ.K.S.S.H..N.....I.....	88	
Zb Cat 481	..M.V.S..GN...AL...H.A.GK..T..H...S.G.....A...-	83	92
Fa Cat 481	FTDV...GA.I.AL...A.KP...IHT..QA.SHMA.KCKANL	80	88
In Cat 481	FTEV...C.HI.AL...A.KP...IHTFVQS.SHLA.REKANL	76	85

Balon balığı (*F. rubripes*) *cat* geni 9. kromozom üzerinde bulunmaktadır. Ayrıca *hmg20a*, *peak1*, *ifitm5*, *ckn1cb*, *tmem168b*, *ptdss2* genlerinin de bu kromozom üzerinde mevcut olduğu ensembl veri tabanından tespit edilmiştir. Zebra balığı ve insanda da bu genlerin korunmuşluğunu ispatlamak amacıyla, bu iki organizmadaki fiziki yerleri tespit edilerek, gen sentenisi manual olarak dizayn edilmiştir. Sonuçta balon balığı, zebra balığı ve insan *cat* geninin sentenisi, bu genin ışın yüzgeçlilerin tüm genom duplikasyonu sonucu oluştuğunu ortaya koyan önemli bir veri olduğu kanaati oluşmuştur.

Balon balığı *cat* geni ile zebra balığı ve insanın *cat/CAT* genleri arasındaki korunmuşluk değerlendirildiğinde, balon balığında 9. kromozom üzerinde yer alan genlerin (*hmg20a*, *peak1*, *ifitm5*, *ckn1cb*, *tmem168b*, *ptdss2*) korunmuş olarak zebra balığında 25. kromozom üzerinde ve insanda 7., 11. ve 22. kromozomlar üzerinde bulunduğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla balon balığı *cat* geni yüksek oranda korunmuş gen yapısı sergilemektedir (Şekil 1). Ancak kemikli balıklarda yaygın olarak görülen tüm spesifik genom duplikasyonu (TGD) sonucunda oluşan duplike genlerin katalazda olmadığı görülmüş ve *cat* genin tek kopya olarak bulunmasının TGD'den sonra bir kopyasının kaybolduğuna işaret ettiği sonucuna varılmıştır. Çalışmamıza paralel olarak, Gerhard ve ark., (2000), zebra balığı (*Danio rerio*) *cat* genin cDNA'sını klonlamış ve gen ifadesini hem ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) hem de western blot ile analiz ettikleri çalışmanın sonucunda bu geni klonlamışlar ve 526 amino asitlik zebra balığı *cat* gen sekansının, omurgalı türler arasında yüksek oranda korunduğunu bildirmişlerdir.

Filogenetik ağaç analizi maksimum olasılık metoduna (Felsenstein, 1989) göre dizayn edilmiş ve filogenetik ilişkinin belirlenmesi için kullanılan organizmaların protein sekanslarının NCBI erişim numaraları filogenetik ağaç üzerinde gösterilmiştir. Balon balığı ile diğer kemikli balıkların katalaz genlerinin, tetrapodlardan farklı bir bölgede kümelenme oluşturduğu görülmüştür (Şekil 2).

Kaynaklar

- Atalay RÇ, 2002. Neden Biyoinformatik? Avrasya Dosyası, Moleküler Biyoloji ve Gen Teknolojileri Özel, Sonbahar, 8(3): 129-141.
- Baxevanis AD, 2001. Ouellette, B. F. F., Bioinformatics: A Practical Guide to the Analysis of Genes and Proteins, 2nd Edition, John Wiley & Sons Inc., New York (NY), 356.
- Berman HM, Westbrook J, Feng Z, Gilliland G, Bhat TN, Weissig H, Shindyalov IN, Bourne PE. 2000. The Protein Data Bank. Nucleic Acids Res, 28: 235-242
- Brenner S, Elgar G, Sandford R, Macrae A, Venkatesh B, Aparicio S. 1993. Characterization of the pufferfish (*fugu*) genome as a compact model vertebrate genome. Nature, 366: 265-268. <https://doi.org/10.1038/366265a0>.
- Crnogorac-Jurcevic T, Brown JR, Lehrach H, Schalkwyk LC. 1997. Tetraodon fluviatilis, a new puffer fish model for genome studies. Genomics, 41:177-184. <https://doi.org/10.1006/geno.1997.4646>
- Çimen Ç., Öter Ç., Demir H., Savran A., 2005. Rat Eritrositlerinden Elde Edilen Katalaz Enziminin Karakterizasyonu ve Kinetiğinin İncelenmesi. YYÜ Vet Fak Derg, 16(1):15-20.
- DeDuve C. 1983. Microbodies in the living cells. Sci. Am. 248:42-52.
- Felsenstein J. 1989. PHYLIP-Phylogeny inference package. Cladistics, 5: 164-166.
- Gerhard G., Kauffman EJ, Grundy M. 2000. A. Molecular cloning and sequence analysis of the *Danio rerio* catalase gene. Comparative Biochemistry and Physiology Part B, 127:447-457. [https://doi.org/10.1016/S0305-0491\(00\)00285-6](https://doi.org/10.1016/S0305-0491(00)00285-6)
- Gutteridge JMC. 1993. "Free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence," Free Radical Research Communications, 19(3): 141-158. <https://doi.org/10.3109/10715769309111598>
- Halliwell B. 1991. Reactive oxygen species in living systems: Source, biochemistry, and role in human disease. The American Journal of Medicine, 91(3): 14-22. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(91\)90279-7](https://doi.org/10.1016/0002-9343(91)90279-7)

- Hogeweg P. 2011. The Roots of Bioinformatics in Theoretical Biology. PLoS Comput Biol, 7(3): e1002021. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1002021>
- Karabulut E, Karaağaoğlu E, 2010. Biyoinformatik ve Biyoistatistik, Hacettepe Tıp Dergisi, 41:162-170.
- Limon-Pacheco J, Gonsebatt ME. 2009. The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. Mutation Research, 674: 137-147. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2008.09.015>
- Luscombe NM. 2001. Greenbaum D, Gerstein M, What is Bioinformatics: A Proposed Definition and Overview of the Field, Method Inform Med, 4:346-358.
- Master C, Holmes R, 1977. Peroxisome: New aspects of cell physiology and biochemistry. Physiol. Rev. 57:866-882.
- Mohamed GA, Amhamed ID, Almabrok AA, ABA Barka I, Bilal S, Elbeshti RT. 2018. Marine Science and Technology Bulletin, 7(2): 51-59.
- Iwama GK, Vijayan AM, Forsyth, Ackerman PA. 1999. Heat Shock Proteins and Physiological Stress in Fish. Amer. Zool., 39: 901-909.
- Poljsak B, Šuput D, Milisav I. 2013. Achieving the Balance between ROS and Antioxidants: When to Use the Synthetic Antioxidants. Hindawi Publishing Corporation Oxidative Med. and Cellular Longevity, Article ID 956792, 11. <https://doi.org/10.1155/2013/956792>.
- Scandalios JG, 1993. Oxygen Stress and Superoxide Dismutases. Milisav Plant Physiol., 101:7-12. 10.1104/101.1.7 <https://doi.org/10.1093/molbev/mst197>.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipiński A, Kumar S. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0 Molecular Biology and Evolution, 30 (12): 2725-2729. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst197>
- Uji S, Kurokawa T, Hashimoto H, Kasuya T, Suzuki T. 2011. Embryogenic staging of fugu, Takifugu rubripes, and expression profiles of aldh1a2, aldh1a3 and cyp26a1. Dev. Growth Differ., 53(5): 715-725. <https://doi.org/10.1111/j.1440-169X.2011.01281.x>.
- Van der Peer Y. 2004. Tetraodon genome confirms Takifugu findings: Most fish are ancient polyploids. Genome Biology, 5: 250. <https://doi.org/10.1186/gb-2004-5-12-250>
- Watabe, S. and Ikeda, D., 2006. Diversity of the pufferfish *Takifugu rubripes* fast skeletal myosin heavy chain genes. Comp. Biochem. Physiol., Part D., 1: 28-34. <https://doi.org/10.1016/j.cbd.2005.12.001>
- Yamanoue Y, Miya M, Matsuura K, Miyazawa S, Tsukamoto N, Doi H, Takahashi H, Mabuchi K, Nishida M, Sakai H. 2009. Explosive Speciation of Takifugu: Another Use of Fugu as a Model System for Evolutionary Biology. Mol. Biol. Evol., 26(3): 623-629. <https://doi.org/10.1093/molbev/msn283>
- Yavuz C, Öztürk ZN. 2017. Working with Proteins in silico: A Review of Online Available Tools for Basic Identification of Proteins. Turkish J. of Agr. - Food Sci. and Tech., 5(1): 65-70. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v5i1.65-70.926>