

**T.C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**



**YÜKSEK LİSANS TEZİ
TARIMSAL BİLİMLER ANABİLİM DALI**

**ASMADA (*Vitis vinifera* L.) HSF ve HSP90 GENLERİNİN
BİYOİNFORMATİK ANALİZLERİ**

Muhammad Mubarak ISA

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Emine Dilşat YEĞENOĞLU**

MANİSA-2024

MUHAMMAD
MUBARAK
ISA

ASMADA (*Vitis vinifera* L.) HSF ve HSP90 GENLERİNİN
BİYOFÖRMATİK ANALİZLERİ

2024

TAAHHÜTNAME

Bu tezin Manisa Celal Bayar Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tarımsal Bilimler Ana Bilim Dalında akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını, tamamen kendi çalışmam olduğunu, her alıntıya kaynak gösterdiğimi, tezin yazımında akademik ve etik kurallara aykırı herhangi bir yapay zeka ve program kullanmadığımı beyan ederim.

İmza

Muhammad Mubarak ISA



ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Muhammad Mubarak ISA
Manisa Celal Bayar Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Tarımsal Bilimler Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Emine Dilşat YEĞENOĞLU

Üzüm üretimi, çeşitli abiyotik stresler nedeniyle önemli kayıplarla karşı karşıyadır. Asmanın bu streslere nasıl tepki verdiğini anlamak, daha iyi yetiştirme teknikleri geliştirmek için çok önemlidir. Isı şoku transkripsiyon faktörleri (HSFs) ve ısı şoku protein 90 (HSP90) bitki stres dayanıklılığında önemli proteinlerdir. Biyoinformatik analizler aracılığı ile, asmalardaki HSF ve HSP90 gen ailelerini tanımlanmıştır. Asma genomunda 16 VvHSF ve 22 VvHSP90 geni tespit edilmiştir ve bunlar sırasıyla üç gruba (A, B, C) ve dört gruba (I, II, III, IV) ayrılmıştır. VvHSF proteinleri 22.99 ila 58.81 kDa arasında değişen moleküler ağırlıklara sahip olup ve pH 4.93 ila 9.19 arasında izoelektrik noktaları ile hepsinin kararsız olduğu bulunmuştur. VvHSP90 proteinlerinin moleküler ağırlıkları 41,74 ila 167,38 kDa arasında değiştiği saptanmış, izoelektrik noktaları pH 4,74 ila 9,31 arasında tespit edilmiştir. Kromozomal analiz, VvHSF genlerinin 11 kromozom üzerinde, VvHSP90 genlerinin ise 13 kromozom üzerinde bulunduğunu göstermiştir. Hücre altı lokalizasyon tahminleri, tüm VvHSF'lerin çekirdekte olduğunu, VvHSP90'ların ise çoğunlukla sitoplazmada bulunduğunu, bazılarının plazma membranında ve çekirdekte yer aldığını göstermiştir. Motif analizi sonucunda ilgili proteinlerin benzer motif modellerini paylaştığı ortaya konulmuştur, bu nedenle işlevsel benzerlikler olduğu düşünülmektedir. Ekzon-intron yapı analizi, çoğu VvHSF geninin bir introna sahip olduğunu, VvHSP90 genlerinin ise 2 ila 20 intron içerdiğini göstermiştir. Üç boyutlu modelleme ile hem VvHSF hem de VvHSP90 proteinlerinin ağırlıklı olarak α -heliks katlanma özelliğine sahip olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, üzümdeki HSF ve HSP90 gen ailelerinin genetiği ve işlevleri hakkında elde edilen kapsamlı bulgular ile, gelecekteki araştırmalara ve ıslah stratejilerine yardımcı olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Asma, Abiyotik Stres, Isı Şoku Transkripsiyon Faktörleri (HSFs), Isı Şoku Proteini (HSP90), Stres Tepkisi, Biyoinformatik.

2024, 58 sayfa

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

Muhammad Mubarak ISA

**Manisa Celal Bayar University
Graduate School of Education
Department of Agricultural Sciences**

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Emine Dilşat YEĞENOĞLU

Grape production faces significant losses due to various abiotic stresses. Understanding how grapevines respond to these stresses is crucial for developing better cultivation techniques. Heat shock transcription factors (HSFs) and heat shock protein 90 (HSP90) are important proteins in plant stress response. We identified and studied the HSF and HSP90 gene families in grapevines using bioinformatic analysis. We identified 16 VvHSF and 22 VvHSP90 genes in the grape genome, categorizing them into three groups (A, B, C) and four (I, II, III, IV), respectively. The VvHSF proteins have molecular weights ranging from 22.99 to 58.81 kDa and are all unstable, with isoelectric points between pH 4.93 and 9.19. VvHSP90 proteins vary from 41.74 to 167.38 kDa, including stable and unstable members, with isoelectric points from pH 4.74 to 9.31. Chromosomal analysis showed that VvHSF genes are present on 11 chromosomes, while VvHSP90 genes are located on 13 chromosomes. Subcellular localization predictions indicated that all VvHSFs are nuclear, whereas VvHSP90s are mostly cytoplasmic, with some located in the plasma membrane and nucleus. Motif analysis revealed that related proteins share similar motif patterns, suggesting functional similarities. Exon-intron structure analysis indicated that most VvHSF genes have one intron, whereas VvHSP90 genes have between 2 and 20 introns. Three-dimensional modeling demonstrated that both VvHSF and VvHSP90 proteins predominantly feature α -helix folding. Cis-acting regulatory element analysis identified many elements related to hormone and stress responses, highlighting the roles of these genes in various pathways. These findings provide comprehensive insights into the genetics and functions of HSF and HSP90 gene families in grapes, paving the way for future research and improved cultivation strategies.

Key Words: Grapevine, Abiotic Stress, Heat Shock Transcription Factors (HSFs), Heat Shock Protein 90 (HSP90), Stress Response, Bioinformatics.

2024, 58 pages

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

"Asmada (*Vitis vinifera* L.) HSF ve HSP90 Genlerinin Biyoinformatik Analizi" başlıklı bu tezde, stres toleransı ile ilgili önemli genler incelenmiştir. Biyoinformatik yöntemler kullanılarak, asma bitkisinde dayanıklılıkla ilişkili genler hakkında bilgileri artırmak ve strese dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesine katkıda bulunmak hedeflenmiştir. Bu çalışma, bu genlerin bitki biyolojisindeki önemine ilişkin kapsamlı bir literatür bildirisi ile başlamaktadır. Bunu takiben, genlerin tanımlanması ve karakterizasyonu için kullanılan biyoinformatik yöntemler detaylandırılmıştır. Sonuçlar bölümü, gen özellikleri, miRNA etkileşimleri ve genlerde bulunan cis etkili potansiyel düzenleyici unsurlara ilişkin temel bulguları göstermektedir. Son olarak, tartışma bölümü bu bulguları zorlu iklim koşulları altında asma bitkisinin dayanıklılığının artırılması bağlamında yorumlamaktadır.

Bu çalışmayı gerçekleştirmemi sağlayan danışmanım Dr. Öğr. Üyesi. Emine Dilşat YEĞENOĞLU'na sürekli desteği ve değerli rehberliği için teşekkür ederim. Sayın Öğr. Gör. Tevfik Hasan CAN'a değerli rehberliği, düzeltmeleri ve geri bildirimleri için özel teşekkürlerimi sunarım. Türkiye'deki eğitimimi ve yaşamımı finansal olarak destekleyen İslam Kalkınma Bankası-YTB bursuna da teşekkürlerimi sunuyorum. Teşvik ve destekleri için aileme içtenlikle teşekkür ederim. Manisa ve Türkiye'deki hayatımı unutulmaz bir deneyime dönüştüren arkadaşlarıma çok teşekkür ederim. Bu yolculuk boyunca hepinizin çok değerli katkıları olmuştur.

Muhammad Mubarak ISA
Manisa, 2024

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

aa	Amino asit
ATP	Adenozin trifosfat
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool (Temel Yerel Hizalama Arama Aracı)
Bp	(bç) Base Pair (Baz çifti)
cm	Santimetre
Da	Dalton- Atomik kütle birimi
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
p-value	p değeri
ER	Endoplazmik retikulum
HSF	Heat shock factor (Isı şoku faktöleri)
HSP	Heat shock protein (Isı şoku proteini)
kDa	Kilodalton
Mbp	Mega Base Pair (Bir Milyon Baz Çifti)
MEME	Multiple EM for Motif Elicitation
miRNA	Mikro RNA
mRNA	Mesajcı Ribo Nükleik Asit
PDB	Protein Data Bank
pI	İzoelektronik Etki Değeri
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. VvHSF genlerinin üzüm kromozomları üzerinde dağılımı	18
Şekil 2. VvHSP90 genlerinin üzüm kromozomları üzerinde dağılımı	18
Şekil 3. VvHSF ailesinin filogenetik ağacı.....	19
Şekil 4. VvHSP90 ailesinin filogenetik ağacı.....	20
Şekil 5. VvHSF ailesinin korunmuş motif organizasyonları	22
Şekil 6. VvHSP90 ailesinin korunmuş motif organizasyonları	23
Şekil 7. VvHSF genlerinin ekzon-intron bölgelerinin organizasyonu.....	24
Şekil 8. VvHSP90 genlerinin ekzon-intron bölgelerinin organizasyonu.....	25
Şekil 9. VvHSF proteinlerinin öngörülen üç boyutlu yapıları.....	26
Şekil 10. VvHSP90 proteinlerinin öngörülen üç boyutlu yapıları.....	27
Şekil 11. VvHSF genlerini hedef alan miRNA'lar	28
Şekil 12. VvHSP90 genlerini hedef alan miRNA'lar.....	29

EKLER DİZİNİ

	Sayfa
EK1. <i>Vitis vinifera</i> HSF Protein Kataloğu	48
EK2. <i>Vitis vinifera</i> HSP90 Protein Kataloğu	49
EK3. <i>Vitis vinifera</i> HSF genlerinin Cis-etkili unsurları	50
EK4. <i>Vitis vinifera</i> HSP90 genlerinin Cis-etkili unsurları	54



İÇİNDEKİLER

ÖZET	I
ABSTRACT	II
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	III
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	V
EKLER DİZİNİ	VI
İÇİNDEKİLER	VII

1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Asma (<i>Vitis vinifera</i> L.)	3
2.2 Sıcaklık Stresi ve Bitkiler Üzerindeki Etkisi	3
2.3 Sıcaklık Stresine Karşı Hücrel ve Moleküler Yanıtlar	4
2.4 Isı Şoku Faktörleri (HSF).....	5
2.5 Isı Şoku Proteinleri (HSP).....	6
2.5.1 Küçük Isı Şoku Proteinleri (sHSP'ler)	7
2.5.2 Isı Şoku Proteini 40 (HSP40).....	8
2.5.3 Isı Şoku Proteini 60 (HSP60).....	9
2.5.4 Isı Şoku Proteini 70 (HSP70).....	10
2.5.5 Isı Şoku Proteini 90 (HSP90).....	10
2.5.6 Isı Şoku Proteini 100 (HSP100).....	11
2.6 Isı Şok Proteinleri ve Isı Şok Faktörleri ile ilgili Çalışmalar	12
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	14
3.1 Üzüm Genomunda Isı Şoku Faktörleri (HSFs) ve Isı Şoku Proteini 90 (HSP90)'nın Tanımlanması.....	14
3.2 Kromozomal Yerleşimi, Hizalama ve Filogenetik Analizi	14

3.3	Hücre Altı Lokalizasyon, Gen Yapısı ve Korunmuş Motif Belirlenmesi.....	15
3.4	HSF ve HSP90 genlerinin 3 Boyutlu Homoloji Modellemesi.....	15
3.5	HSF ve HSP90 Genlerini Hedef Alan miRNA'ların Belirlenmesi.....	15
3.6	VvHSFs ve VvHSP90 Genlerinin Promotör Bölge Analizi	16
4.	ARAŞTIRMA BULGULARI.....	17
4.1	Asmada HSP ve HSF Genlerinin Tanımlanması ve Proteinlerin Karakterizasyonu.....	17
4.2	VvHSF ve vvHSP Genlerinin Kromozomal Dağılımı	17
4.3	Filogenetik analiz	19
4.4	VvHSF ve VvHSP90 Genlerinin Hücre Altı Lokalizasyonunun, Gen Yapısının ve Korunmuş Motif Yapısının Tanımlanması	21
4.5	HSF ve HSP90 Proteinlerinin 3 Boyutlu Homoloji Modellemesi	25
4.6	VvHSF ve VvHSP90 Genlerini Hedef Alan miRNA'ların Tespit Edilmesi..	27
4.7	VvHSF ve VvHSP90 genlerindeki Cis-etkili düzenleyici unsurların tanımlanması	30
5.	TARTIŞMA VE SONUÇ	31
5.1	VvHSF Ailesinin Biyoinformatik Analizleri.....	31
5.2	VvHSP90 Ailesinin Biyoinformatik Analizleri.....	34
5.3	Sonuç	36
	KAYNAKLAR.....	38

1. GİRİŞ

Asma (*Vitis vinifera* L.) dünya çapında yetiştirilen ekonomik öneme sahip bir meyvedir. Dünyada 2023 yılında üzüm üretimi 237 milyon hektolitreye ulaşmış olup, Türkiye bağ alanı bakımından dünya genelinde beşinci sırada yer almaktadır [1], [2]. Üzüm vitaminler ve mineraller açısından zengindir ve sofralık, şaraplık veya kuru üzüm olarak değerlendirilmektedir. Uygun hava koşulları, istikrarlı ve yüksek kaliteli üzüm üretimi için çok önemlidir. Bununla beraber, üzümde artan talep, küresel iklim değişikliği, özellikle de sıcaklık ve kuraklık gibi abiyotik streslerden kaynaklanan zorluklarla karşı karşıyadır [3].

Çevresel stres koşullarıyla mücadele etmek için bitki genleri, ekspresyon (ifade) seviyelerini ayarlamak ve bitkinin hücresel dengeyi korumasına yardımcı olmak için özel proteinler olan transkripsiyon faktörleriyle etkileşime girmektedirler [4]. Bitkilerde stres yanıtı üzerine yapılan araştırmalar, dayanıklı çeşitlerin seçilmesinde ve yetiştirme uygulamalarının iyileştirilmesinde yetiştiricilere ve üreticilere yardımcı olmaktadır.

Isı şoku proteinleri ısı, kuraklık ve soğuk gibi stres koşullarına yanıt olarak üretilen genlerdir. Sitoplazma, endoplazmik retikulum, mitokondri ve sitozol gibi hücresel yapılarda bulunurlar [5], moleküler ağırlıklarına göre HSP100, HSP90, HSP70, HSP60 ve küçük HSP'ler olarak sınıflara ayrılmaktadırlar. Hücresel homeostazın korunması için gereklidirler ve protein sentezi sırasında moleküler şaperonlar olarak hareket etmektedirler.

Biyoinformatik, moleküler düzeyde biyolojik sistemleri anlamak, araştırmacılar için öngörüler sağlamak amacıyla hesaplamalı ve analitik yöntemlerin kullanıldığı bir bilim dalıdır. Biyoinformatik olarak bitki stres mekanizmalarının aydınlatılması özellikle abiyotik stres yönetimi ile ıslah çalışmaları için önemlidir [6], [7]. Asmada ısı şoku proteinlerinin (HSP'ler) ve ısı şoku faktörlerinin (HSF'ler) kapsamlı bir analizini içeren çalışmalar sınırlı bir düzeydedir.

Bu çalışmada, asma genomundaki ısı şok faktörleri (HSF'ler) ve ısı şok proteini 90 (HSP90) biyoinformatik karakterizasyonu ile asmadaki işlevleri ve etkileşimlerinin *in-silico* olarak tanımlanması hedeflenmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1 Asma (*Vitis vinifera* L.)

Asma (*Vitis vinifera*), dünya çapında ekonomik açıdan en önemli meyve ürünlerinden biridir. Şaraplık, sofralık olarak üretilmesinin yanısıra meyve suyu ve kuru üzüm üretiminde de kullanılmaktadır. [8]. Bağcılığın sosyoekonomik kalkınmaya önemli ölçüde katkıda bulunduğu Akdeniz havzasında belirgin bir ekonomik öneme sahiptir [9].

Küresel üretim incelendiğinde, yılda yaklaşık 77,8 milyon ton (mt) üzüm hasat edilmekte ve çeşitli sektörlerde değerlendirilmektedir. Üretimin 57'si şarap, %36'sı taze meyve ve %7'si kuru üzüm olarak tüketilmektedir [10]. Önde gelen üreticiler İspanya, Fransa, İtalya, Çin ve Türkiye'dir ve her biri küresel pazara önemli ölçüde katkıda bulunmaktadır [10].

Türkiye'de bağ alanları son yirmi yılda 416.907 hektara düşmüş olsa da [11] 2022 yılı tarımsal verileri, 1.681.808 tonu kuru üzüm ve 383.333 tonu şarap endüstrisi için olmak üzere toplam 2.099.859-ton üzüm ile önemli bir rekolteye işaret etmektedir [12]. Ancak üzüm üretimi küresel iklim değişikliği sonucunda artan ortalama sıcaklıklar ve meteorolojik olaylar nedeniyle verimde kayıplar olduğu görülmektedir. Bu durum, bağcılığın sıcak stresi nedeniyle artan riskle karşı karşıya kalmasıyla birlikte önemli zorlukları ortaya çıkarmaktadır [13], [14], [15].

2.2 Sıcaklık Stresi ve Bitkiler Üzerindeki Etkisi

İnsan kaynaklı faaliyetler ve artan küresel ısınma, bitki büyümesini, metabolizmasını ve verimliliğini derinden etkileyen sıcaklık stresinin başlıca nedenleridir [16]. Sıcaklık stresi, biyokimyasal ve fizyolojik süreçleri bozarak bitkilerde tipik gen ifade modellerini değiştirmektedir [17]. Böylece özellikle üreme gibi gelişimin hassas aşamalarını etkileyerek ürün verimini düşürebilmektedir [18]. Asmayı etkileyen önemli abiyotik stres faktörlerinden biri de sıcaklık stresidir. Kalıcı yüksek sıcaklıklarda asma

gelişimi, meyve kalitesi ve üretimi azalmaktadır [15]. Yüksek sıcaklıklar sırasında fotosentezde düşüş ve sıcaklık kaynaklı zarar riskinde artış olmaktadır [19].

Asmada uzun süreli sıcak hava dalgaları asma fizyolojisini ve verimini ciddi şekilde etkileyebilmektedir [20]. Bu durum, sıcaklık stresinin genellikle kuraklıkla birlikte ortaya çıkması, stoma iletkenliğinin ve su kullanım verimliliğinin azalmasına yol açarak bitkinin stresle mücadelesinin zorlaşmasına neden olmaktadır [21]. Yüksek ortam sıcaklığının üzümün kalitesi üzerinde etkileri bulunmaktadır [9]. Antosiyanin sentezi üzerinde olumsuz bir etki yaratarak, üzümlerin daha açık renkli olmasına neden olabilirken, uçucu hale gelen aroma bileşikleri meyvenin lezzet profilini değiştirebilmektedir [22]. Ayrıca şekerler ve asitler arasındaki denge bozulmakta, şeker seviyesi artmakta ve son üründe istenen asitlik azalmaktadır [3]. Genel olarak, sıcaklık stresine bağlı fiziksel yaralanmaların, fizyolojik bozuklukların ve biyokimyasal değişimlerin etkisi, üzümlerin ve diğer ürünlerin büyümesi ile verimini önemli ölçüde zayıflatabilmektedir [9], [23], [24].

Sıcaklık stresi kaynaklı sorunları anlama ve çözme ihtiyacı, iklim değişikliği ile sürekli olarak hızlanmakta ve bitkilerin özellikle de asmaların sıcaklık stresine tepki mekanizmasının anlaşılmasını daha da önemli hale getirmektedir. Böylece geleneksel ıslah, biyoteknoloji, moleküler ve omik tekniklerin bir araya getirilmesi yoluyla sıcaklık stresine dayanıklı üzüm çeşitlerinin geliştirilmesi giderek önem kazanmaktadır [23], [25].

2.3 Sıcaklık Stresine Karşı Hücresel ve Moleküler Yanıtlar

Sıcaklık stresi, bitkilerde fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler mekanizmalardan oluşan bir ağı harekete geçirerek çok yönlü bir tepki ortaya çıkarmaktadır. Bu tepkiler arasında iyon taşıyıcıların, savunma proteinlerinin, ozmoprotektanların, antioksidanların ve hücresel hasarı hafifletmekle görevli karmaşık sinyal kaskadlarının aktivasyonu kilit bir öneme sahiptir [26]. Asmalarda sıcak stresi, hücresel değişikliklere yol açarak bitkinin canlılığı ve hayatta kalması için temel olan solunum, fotosentez ve transpirasyon gibi önemli metabolik süreçleri bozmaktadır [3].

Bitkiler moleküler ölçekte kapsamlı bir stres yönetimi stratejisi uygulayarak sinyal yollarını ve gen düzenleyici ağları düzenlemektedirler. Sıcaklık stresine yanıt içinde yer alan yolaklarda, stres esnasında çoğalan reaktif oksijen türlerinin (ROS) nötralize edilmesinde etkili olan askorbat peroksidaz (APX) ve dehidroaskorbat redüktaz (DHAR) gibi genlerin ekspresyonunun artmasının yanı sıra moleküler şaperonları kodlayan ısı şoku protein (HSP) genlerinin ekspresyonu da uyarılmaktadır [3]. Bu genlerin regulasyonu bitkinin termal strese tepkisini ayarlayan bir dizi transkripsiyonel ve post-transkripsiyonel kontrolü içermektedir. Üzümde sıcak stresine maruz kalan yapraklarda transkripsiyonel değişimler ve bağılı olarak HSP'ler ile antioksidan enzim ekspresyonunda belirgin bir artış gözlenmiş, bu yanıtın termotolerans mekanizmasının bir özelliği olduğu belirtilmiştir [27], [28].

2.4 Isı Şoku Faktörleri (HSF)

Isı şoku tepkisinin merkezinde, sıcaklık kaynaklı stres karşısında bitkinin savunma mekanizmalarını hızla harekete geçirmekle görevli olan Isı Şoku Faktörleri yer almaktadır [24], [27]. Transkripsiyon faktörleri olarak, termal stres algılamada ve karmaşık ısı şoku proteini temelli koruyucu süreci yönlendiren genomik yanıtı uyarmada merkezi bir rol oynamaktadırlar [14]. Isı şok faktörleri, özellikle ısı şok proteinlerini başta olmak üzere çeşitli genlerin ifadelerini aktive etmektedirler [4]. Bu yanıt, bitkinin hayatta kalması ve adaptasyonu için gerekli hücresel ortamın oluşturulmasında önemli bir rol oynamaktadır [28].

Isı şok faktörlerinin (HSF'ler) temel yapısı hayli korunmuş olup, 3 bölgeden oluşmaktadır. Bunlar; DNA bağlayıcı alan (DBD), oligomerizasyon alanı (OD), nükleer lokalizasyon sinyali (NLS) ve C-terminal transkripsiyonel aktivasyon alanıdır (CTD) [4].

N-terminal DNA-bağlayıcı alan (DBD), hedef promotörlerdeki ısı şoku elemanlarını (HSE'ler, 5'-nGAAnnTTCn-3') tanımakla görevlidir [29]. DBD'nin bitişiğinde, transkripsiyonel aktivasyon sırasında protein-protein etkileşimlerini ve trimerizasyonu kolaylaştıran oligomerizasyon alanı (OD veya HR-A/B motifi) bulunmaktadır [30]. Nükleer lokalizasyon sinyali (NLS) ve nükleer eksport sinyali (NES),

özellikle Sınıf A HSF'lerde HSF'lerin sitoplazma ve çekirdek arasındaki dolaşımını düzenlemektedir [30].

HSF'ler A, B ve C tipi olmak üzere üç ana sınıfa ayrılmaktadır [4], [31], [32]. Tip A HSF'ler *Arabidopsis thaliana*, *Oryza sativa* (pirinç) ve *Populus trichocarpa* (kavak) dahil olmak üzere bir çok türde en büyük grubu temsil etmektedirler [33], [33], [34], [35]. Bu HSF'ler yüksek ışık yoğunluğu ve sıcaklık gibi çevresel streslere karşı erken tepkide önemlidir [36], [37]. B tipi HSF'ler gen ifadesinin ko-aktivatörleri veya baskılayıcıları olarak işlev görmektedirler [38]. Örneğin, soya fasulyesinde flavonoid biyosentezini teşvik ederek tuz toleransını artırmaktadırlar [38]. C tipi HSF'lerin ise aktivatör işlevine sahip olmadığı düşünülmektedir ancak bazı stres faktörlerinde özgül rollerinin olduğu belirtilmektedir. Örneğin, HSFC1b'nin pirinçte ABA tepkisine aracılık ederek tuz toleransını ve gelişimini düzenlediği bildirilmiştir [30], [39].

HSF'ler stres koşulları altında trimerizasyon, çekirdek lokalizasyonu dahil olmak üzere bir dizi aktivasyon aşamasından geçmektedirler ve hedef genlerin promotör bölgelerindeki ısı şoku elementlerine (HSE'ler) bağlanmaktadır [40], [41]. HSF'lerin aktivasyonu, strese kesin bir yanıt sağlamak için DNA bağlanma afinitelerini, nükleer lokalizasyonlarını ve transkripsiyonel aktivitelerinin dahil olduğu çok sayıda post-translasyonel modifikasyonu içeren sıkı bir şekilde düzenlenmiş bir süreçtir [30].

2.5 Isı Şoku Proteinleri (HSP)

Etkinleştirilmiş HSF'lerden gelen sinyali takiben, Isı Şoku Proteinleri büyük miktarda sentezlenmektedirler [5]. Bu moleküler şaperonlar, katlanmamış proteinleri stabilize etmek, uygun protein katlanmasını kolaylaştırmak ve denatüre proteinlerin agregasyonunu önlemek gibi kritik işlevleri yerine getirerek stres altındaki hücrelerin korunmasında hayati rol oynamaktadırlar [42], [43], [44]. Çeşitli hücresel bölümler boyunca hareket ederek, stres olayları sırasında protein yapılarının korunmasını ve yeniden düzenlenmesini sağlamaktadırlar [45].

Isı şoku proteinlerinin keşfedilmesi, sıcaklık stresine maruz kaldığında *Drosophila melanogaster*'in tükürük bezlerinin kromozomlarında, yüksek sıcaklıklara yanıt olarak

gen ifadesinde bir artışa işaret eden belirgin bir şişme (puffs) görülmesine dayanmaktadır [46]. Bu proteinler daha sonra sıcaklıkla uyarılan ekspresyonla olan ilişkileri nedeniyle 'ısı şoku proteinleri' (HSPs) olarak adlandırılmıştır [47]. Daha sonraki araştırmalar, ısı şok proteinlerinin sadece ısı şokunda değil; çeşitli biyotik ve abiyotik stres faktörlerine yanıt olarak gen ifadelerinin arttığını ortaya koymuştur [48]. Böylece stres proteinleri olarak daha geniş bir sınıflandırmaya yol açmış ve çoklu stres biçimlerine karşı hücrel savunma mekanizmalarındaki rollerini kabul edilmiştir [5].

Isı şoku proteinlerinin, C-terminal bölgelerinde ayırt edici bir ısı şoku bölgesi (domain) bulunmaktadır [40]. Bu da stres tepkisine dahil olduklarının bir işaretidir. HSP'ler 10 kDa (kilo Dalton) ile 200 kDa arasında değişen moleküler ağırlıklarına ve işlevsel mekanizmalarına göre kategoriler halinde gruplandırılır [49]. sHSP (küçük ısı şoku proteinleri), HSP40, HSP60, HSP70, HSP90 ve HSP100 olmak üzere altı sınıfa ayrılmaktadırlar [5]. Isı şoku proteinleri hücre içindeki proteinlerin uygun şekilde katlanmasını, bir araya gelmesini ve stabilizasyonunu sağlamak için işbirliği yaparak hücre içi protein dengesini sağlamaktadırlar [4].

2.5.1 Küçük Isı Şoku Proteinleri (sHSP'ler)

Küçük Isı Şoku Proteinleri (sHSP'ler), yanlış katlanmış proteinlerin toplanmasını önleyerek strese karşı hücrel korumada önemli roller oynayan çeşitli düşük moleküler ağırlıklı bir moleküler şaperon ailesidir [50]. sHSP'ler tüm organizmalarda her dokuda ifade edilir ve sitozol, mitokondri ile kloroplastlar da dahil olmak üzere çeşitli hücrel organellerde bulunur [51]. Korunmuş bir α -kristallin alanı ile karakterize edilirler ve işlevsel olmayan protein agregatlarının oluşumunu önleyerek kısmen katlanmamış proteinleri bağlama ve stabilize etme yetenekleriyle bilinmektedir [52].

Yapısal olarak, sHSP'ler tipik olarak daha küçük alt birimlere ayrılma kapasitesine sahip büyük oligomerik kompleksler oluşturlar [53]. Bu dinamik oligomerizasyon, şaperon işlevleri için çok önemlidir ve sHSP'lerin hücrel stres sırasında karşılaşılan değişen substrat yüklerine uyum sağlamasına olanak tanımaktadır [53]. Substrat proteinleri ile etkileşime esnek N-terminal bölgesi ve korunmuş α -kristallin alanı aracılık

eder; bunlar birlikte denatüre proteinlerin bağlanmasını ve salınmasını kolaylaştırarak stres sonrası hücrel iyileşmeye yardımcı olmaktadır [50].

sHSP'ler, tipik olarak 12 ila 42 kDa arasında değişen moleküler ağırlıklarıyla diğer HSP'lerden ayırt edilebilmektedirler [54]. Stres koşulları, özellikle de termal stres karşısında, sHSP'lerin ifadesi, hücrel proteinleri agregasyondan korumak için belirgin bir şekilde artmaktadır, tropikal ortamlardaki organizmaların termotoleransına önemli ölçüde katkıda bulunan bir özelliktir [52], [55].

Bitki gelişiminde ve stresin azaltılmasında, sHSP'ler oldukça önemlidir; sıcaklık stresi sırasında yanlış katlanmış proteinlerin yeniden katlanmasına yardımcı olur ve tohum gelişimi, kuraklık toleransı ve uzun yaşamda kritik roller oynamaktadır [56]. Ayrıca reaktif oksijen türlerinin birikiminin azaltılmasında, hayatta kalma oranlarının artırılmasında ve stres koşulları altında fotosentetik süreçlerin korunmasında rol oynamaktadırlar [57]. *Arabidopsis*'te sıcaklık stresi altında kloroplast işlevselliği için hayati öneme sahiptirler ve plastid RNA polimerazın çalışmasını sağlamaktadırlar [58]. Çay bitkisinde, 22 CsHSP geni, spesifik doku ekspresyonu ile sıcaklık ve kuraklık stresi altında uyarılması ile bilinmektedir. Büyümede, çevresel koşullarla başa çıkmada çeşitli fonksiyonel roller üstlenmektedirler [59]. Pamukta (*Gossypium hirsutum*) üzerinde yapılan bir çalışmada, abiyotik stres sırasında gelişimsel süreçlerde ve sinyalizasyonda yer alan 94 GhHSP20 geni tanımlanmıştır [60]. Benzer şekilde, üzüm genomundan toplam 48 VvHSP20 geni tanımlanmıştır ve bu genlerde meyve gelişimi sırasında H₂O₂ muamelesi ile gen ifadesi azaldığı belirlenmiştir [61].

2.5.2 Isı Şoku Proteini 40 (HSP40)

Karakteristik J-domainleri nedeniyle J-proteinleri olarak da adlandırılan Isı Şoku Proteini 40 (HSP40), HSP70'lere yardımcı şaperon görevi görür [62]. HSP40 proteinleri yaşamın tüm alemlerinde bulunmaktadır ve HSP70 ile etkileşimleri yoluyla geniş bir hücrel yolak yelpazesini etkilemektedir [63]. HSP70'lerin ATPaz aktivitesini artırarak protein katlanması, açılması, translasyonu ve bozunması gibi şaperon işlevlerini modüle ederek yönetmektedir [64], [65].

HSP40 proteinleri yüksek oranda korunmuş bir N-terminal J-domaini, bir Gly/Phe-zengin (G/F) bölgesi, bir çinko parmak benzeri CxxCxGxG motifi ve bir C-terminal substrat bağlama alanından oluşur [14], [62]. Ortak HSP70'in ATPaz aktivitesi, HSP40'ın J-domaini ile HSP70'in ATPaz domaini arasındaki etkileşimle uyarılmaktadır [66]. Dahası, bazı HSP40'lar substrat bağlama alanlarına sahiptir, bu da katlanmamış proteinleri bağımsız olarak bağlamalarına ve daha sonra yeniden katlanmaları için HSP70'e aktarmalarına izin vermektedirler [67].

DnaJ genine ilişkin çalışmalar Biberde 76 [68], *Sorghum bicolor*'da 113 [69], pirinçte 115 [70], *Arabidopsis*'te 117 [19] ve üzümde 78 [14] DnaJ genleri saptamışlardır. Bu da stres yanıtlarındaki işlevsel önemini vurgulamaktadır. HSP40'ın bitkilerde termotolerans ve protein kalitesinin korunmasındaki rolü çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Soya fasulyesinde, GmDNJ1 geninin hem büyüme hem de sıcaklık toleransı ile bağlantılı olduğu, böylece HSP40'ın termal adaptasyondaki rolü belirtilmiştir [71].

2.5.3 Isı Şoku Proteini 60 (HSP60)

HSP60 ailesi, kritik hücresel süreçler için temel olan çok çeşitli proteinlerin doğru bir şekilde katlanması için gerekli olduklarından, tüm büyüme koşulları altında hücresel hayatta kalma için vazgeçilmez şaperoninlerdir [72].

İşlevleri için gerekli olan ATP'ye bağlı konformasyonel değişikliklere uğrayan iki istiflenmiş halkadan oluşan ilginç dev bir fiçı benzeri yapı oluşturmaktadır [73]. Buna genellikle HSP60'ın katlanmamış polipeptitleri tamamen kapsüllemesini sağlayan ve protein katlanması için izole bir ortam sağlayan bir yardımcı şaperon HSP10 (bakterilerde GroES) eşlik etmektedirler [74]. HSP60'ın ATP güdümlü döngüsü, şaperonin kompleksini açık ve kapalı durumlar arasında değiştiren ve korunan bölme içindeki proteinlerin ATP'ye bağlı katlanmasını kolaylaştıran konformasyonel değişiklikleri içermektedir [75].

HSP60, özellikle yüksek sıcaklık stresi altında protein homeostazının korunmasına ve protein agregasyonunun önlenmesine yardımcı olur [76]. HSP60'ın diğer ısı şoku

proteinleri ile birlikte uyarılması, çeşitli bitki stres faktörlerine karşı tipik bir yanıt olduğu belirtilmektedir [47]. HSP60 gen ailesinin incelenmesi, bitki büyümesindeki önemine, stres tepkisine ve denatüre proteinlerin membran stabilizasyonu ve onarımındaki lipopşaperonin rolüne odaklanmakta, böylece termal agregasyonu önlemektedir [72].

2.5.4 Isı Şoku Proteini 70 (HSP70)

HSP70 proteinleri, bir ara segment ile birbirine bağlanan bir N-terminal ATPaz alanına ve bir C-terminal substrat bağlama alanına sahiptir [67]. Bu konfigürasyon, proteinin şaperon aktivitesi için çok önemli olan ATP hidrolizi tarafından düzenlenen dinamik bir substrat bağlama ve salma döngüsü sağlamaktadır [66], [67].

Bitkilerde, HSP70'in ATP güdümlü çalışma mekanizması stres koşulları sırasında önemlidir. HSP70'in yanlış katlanmış proteinlerin toplanmasını önlemektedir ve yeniden katlanmaları mümkün değilse doğru katlanmalarını veya bozulmalarını sağlamaktadır [47], [77]. Bu süreçler sadece stres altında değil, aynı zamanda hücre içindeki protein homeostazının korunmasına katkıda bulundukları için gelişimsel süreç sırasında da gereklidir [78].

HSP70'in fonksiyonelliği, katlanma sürecine aracılık etmek için HSP40 gibi yardımcı şaperonlarla etkileşime girdiği moleküler bir şaperon olarak geleneksel rolünün ötesine uzanmaktadır [66]. Ayrıca sinyal iletim yollarında ve bağışıklık tepkisinde de rol oynamaktadır [77] bitkinin stres koşulları altında adaptasyonu ve hayatta kalması için hayati önem taşıyan moleküllerdir [5].

2.5.5 Isı Şoku Proteini 90 (HSP90)

Isı şoku proteini 90 (HSP90), hücre sinyalizasyonunda, protein katlanmasında ve düzenleyici süreçlerde yer alan çok sayıda proteinin stabilitesi ve işlevi için hayati önem taşıyan, yüksek oranda korunmuş bir moleküler şaperondur [79]. Bir çok organizmada ve organellerde bulunan HSP90, özellikle stres koşulları altında hücresel homeostazının ayrılmaz bir parçası olan “proteinlerin” olgunlaşmasında belirgin bir rol oynamaktadır

[80]. HSP90, ATP bağlama ve hidroliz döngüsüne yardımcı olan şaperon aktivitesi için gerekli komplementer şaperonları içeren çok bileşenli bir sistemde çalışır [81].

HSP90'ın üç ana alanı (domain) vardır: bunlar ATP'yi bağlayan ve hidrolize eden bir N-terminal alanı; istemci proteinlerle etkileşime giren bir orta alan; ve dimerizasyonda yer alan bir C-terminal alanıdır [79]. HSP90'ın ATP/ADP döngüsü sıkı bir şekilde düzenlenir, bu da şaperonun konformasyonel durumunu belirler ve ilgili proteinlere olan afinitesini yönetir [80]. ATP hidrolizi üzerine bir dizi konformasyonel değişiklik yoluyla, HSP90 birçok hedef proteini stabilize etme ve aktive etme işlevini yerine getirmektedir [82].

2.5.6 Isı Şoku Proteini 100 (HSP100)

AAA+ (ATPases Associated with diverse cellular Activities) protein ailesinin bir parçası olan ısı şok proteini 100 (HSP100) termotoleransta ve hücre içindeki protein kalite kontrol sistemleri rol oynamaktadır [76], [83]. Öncelikle stres sonrası denatüre proteinlerin ayrıştırılması ve yeniden katlanmasındaki rolleriyle tanınmaktadırlar [84]. HSP100 proteinleri, proteostazın korunmasında moleküler kontrol noktaları olarak işlev görmektedir ve böylece ısı stresi koşullarında hayati bir rol oynamaktadır [48], [76].

HSP100 proteinleri bir veya iki ATPaz alanı, substrat translokasyonu için merkezi bir kanal ve substrat etkileşimi için sarmal bir orta alan ile karakterize edilmektedir [83], [84]. Tipik olarak birikmiş proteinleri tespit ederler, yanlış katlanmış proteinlerin ayrışmasını ve yeniden katlanmasını katalize etmek için ATPaz aktivitelerini kullanmaktadırlar [85]. Normal protein konformasyonunun yeniden oluşturulması ve stres koşulları altında protein dengesinin korunması, bitkinin hayatta kalması için gereklidirler [83]. HSP100, protein agregatlarını tanıyarak ve yeniden şekillendirerek, denatüre edici koşullara maruz kalan proteinlerin geri dönüşümünü kolaylaştırmaktadırlar [86].

2.6 Isı Şok Proteinleri ve Isı Şok Faktörleri ile ilgili Çalışmalar

Üzüm de dahil olmak üzere çeşitli bitki türlerinde Isı Şoku Proteinleri (HSP) ve Isı Şoku Faktörleri (HSF) üzerine yapılan araştırmaların zenginliğine rağmen, detaylı bir inceleme, özellikle *Vitis vinifera* L. de HSF ve HSP gen ailelerinin sınıflandırılması konusunda hala keşfedilmemiş bölgeler olduğunu göstermektedir. Biyoinformatik yöntemler, gen dizileme teknolojisindeki sürekli gelişme sayesinde birçok bitki türünde önemli gen ailelerinin tanımlanması ve sınıflandırılması için yararlı sonuçlar vermektedir. Örneğin, bitkilerde ilk HSF geni domatestede (*Solanum lycopersicum*) klonlanmıştır [87]. Bugüne kadar, HSF'ler model bitki türlerinin yanı sıra bazı tahıl ürünlerini de içeren farklı türlerde rapor edilmiştir. *Arabidopsis*'te (*Arabidopsis thaliana*) 21, biberde (*Capsicum annum* L.) 25, mısırdaki 31 HSF kaydedilmiştir. Mısırdaki (*Zea mays*) 31 HSF, kavakta (*Populus trichocarpa*) 25, domatestede (*Solanum lycopersicum*) 27, pirinçte (*Oryza sativa*) 28, üzümde (*Vitis vinifera*) 19, (*Vitis flexuosa*) 19, buğdayda (*Triticum aestivum*) 78, elmada (*Malus domestica*) 25 HSF bulunmuştur [4], [28], [29], [35], [88], [89], [90], [91], [92], [93], [94]. Bununla birlikte, HSF'ler de bitkiler arasında görülen farklılıklar, hem sayı hem de yapısına bağlı olarak evrimsel değişikliklere tabi olduklarını göstermektedir [29]

Benzer şekilde, HSP'ler *Arabidopsis* de dahil olmak üzere birçok bitki türünde karakterize edilmiştir [29]. Bu bitkiler arasında buğday [94], [95], ayçiçeği [96], kavak [97], domates [29], [98], okaliptüs [99], karpuz [43] ve salatalık bulunmaktadır [14].

HSP90 gen ailesinin de dahil olduğu genom çapındaki çalışmaların birçoğunda, özellikle tek yıllık bitkilerde ısı şok protein aileleri arasında en az üyeye sahip grup olduğu fark edilmiştir. HSP90 proteininin *Arabidopsis*'te 7 [100], pirinçte 9 [101], soya fasulyesi ve mısırın her birinde 15 ve 12 [100], salatalıkta 6 [14], karpuzda 6 [43], buğdayda 18 [44], kavakta 12 [97], çay bitkisinde 7 [59] ve üzümde 7 üyesi bulunmaktadır. [102].

Üzüm genomu ise kapsamlı bir şekilde dizilenmiş ve düzenli güncellenmiştir, yakın zamanda *Vitis vinifera* L'nin tam referans genomunu yayınlanmış ve önceki (12X.v0) versiyona göre 9018 daha fazla gen tanımlanmıştır. [1]. Üzümde HSP20 [61],

HSP40 [103], HSP70 [15] ve HSP90 [102] gen aileleri ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır. Ancak, yakın zamanda genomun düzenlenmesi ve güncellenmesiyle bu gen ailelerinin daha ayrıntılı tanımlanması ve sınıflandırılması gereksinimi de ortaya çıkmıştır. Bu çalışmada, biyoinformatik analiz ile HSF ve HSP90 gen ailesini tanımlanması ve karakterize edilmesi, üzümdeki filogenetik ilişkileri ve evrimsel kökenlerinin analiz edilmesi amaçlanmaktadır. Asmadaki HSF ve HSP90 ailesinin özelliklerini, işlevsel farklılığını ve evrimsel değişimini daha iyi anlamak için temel oluşturacaktır. Bunun dışında, küresel bağcılığın sürdürülebilirliği için çok önemli bir husus olan çevresel strese karşı asmanın fizyolojik tepkileri hakkındaki bilgilerin artmasına katkıda bulunacaktır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Üzüm Genomunda Isı Şoku Faktörleri (HSF) ve Isı Şoku Proteini 90 (HSP90)'nın Tanımlanması

Üzümün genom verileri National Center for Biotechnology Information Database'den (NCBI) elde edilmiştir. Ardından, tanımlanan HSP90 ailesinin peptit dizileri Heat Shock Protein Information Resource Database'den (HSPiR, <http://pds1ab.biochem.iisc.ernet.in/HSPiR/index.php>) elde edilmiştir [104]. Tanımlanan ısı şok faktörü dizileri Plant Transcription Factor Database'den (<http://planttfdb.gao-lab.org>) alınmıştır. Tüm bu veriler CLC Workbench 21 platformuna kaydedilerek dizilerin benzerlikleri BLASTP ile karşılaştırılmıştır. Beklenti değeri $\geq e-60$ olan ve $\geq \%60$ benzerlik gösteren sorgu eşleşmeleri anlamlı eşleşme olarak kabul edilmiştir. Yine, Pfam (<https://pfam.xfam.org>) veri tabanındaki ısı şok faktörü ve ısı şok proteini 90 ile ilişkili korunmuş bölgeler, CLC Workbench 21 platformu aracılığıyla üzüm genomunda kodlanan tüm proteinlerle karşılaştırılmıştır. Tekrarlayan diziler elenerek olası ısı şoku proteini 90 (HSP90) ve transkripsiyon faktörü (HSF) genleri tanımlanmıştır.

3.2 Kromozomal Yerleşimi, Hizalama ve Filogenetik Analizi

HSF ve HSP90 gen ailelerinin kromozomal yerleşimi NCBI'deki genom dosyasından alınmıştır (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Tüm genlerin farklı kromozomlar üzerindeki yerleri belirlendikten sonra, kromozom üzerindeki konumlarına göre yeni isimler verilmiştir. Daha sonra MapChart yazılımı [104] HSF ve HSP90 genlerinin her birinin kromozomal yerleşimi görselleştirmek için kullanılmıştır.

Üzümde varsayılan HSF ve HSP90 ailesi protein dizileri, ClustalW algoritması kullanılarak Çoklu dizi hizalaması (Multiple Sequence Alignment) kullanılarak sırasıyla hizalanmıştır. Hizalama sonuçları MEGA11 yazılımına [105] yüklenmiş ve Maksimum benzerlik (Maximum Likelihood) metodu kullanılarak filogenetik ağaçlar çizilmiştir.

Filogenetik ağaçların görsel düzenlemeleri iTOL web aracı (<https://itol.embl.de>) kullanılarak yapılmıştır.

3.3 Hücre Altı Lokalizasyon, Gen Yapısı ve Korunmuş Motif Belirlenmesi

VvHSF ve VvHSP90'ın hücre altı lokalizasyonu CELLO v.2.5 (<http://cello.life.nctu.edu.tw/>) kullanılarak tahmin edilmiştir [106]. Sırasıyla VvHSF ve VvHSP90'ın kodlama dizileri ve genomik dizileri kullanılarak gen yapıları, gen organizasyonunu ve ekzon-intron bölgelerini ortaya çıkarmak için Gene Structure Display Server'dan (<http://gsds.gao-lab.org>) belirlenmiştir [107].

HSF ve HSP90 proteinlerinin korunmuş motif analizi, aşağıdaki parametrelerle Multiple Em for Motif Elicitation (MEME) Suite çevrimiçi aracı, (<https://meme-suite.org/meme/index.html>) kullanılarak belirlenmiş, maksimum motif sayısı = 20; bölge dağılımları = herhangi bir sayıda tekrar; motif genişliği = 6 - 50 olarak seçilmiştir [108].

3.4 HSF ve HSP90 genlerinin 3 Boyutlu Homoloji Modellemesi

HSF ve HSP90 proteinlerinin tahmini üç boyutlu yapılarını belirlemek için Protein Veri Bankası'nda (PDB) BLASTP araması gerçekleştirilmiştir. Üzüm, HSF ve HSP90 genlerinin tahmini 3D formları Phyre2 veritabanı (<http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre2>) kullanılarak gerçekleştirilmiştir [109].

3.5 HSF ve HSP90 Genlerini Hedef Alan miRNA'ların Belirlenmesi

Üzüm genomundaki HSF ve HSP90 genlerini hedefleyen miRNA'ları belirlemek için miRBase (<http://www.mirbase.org/>) çevrimiçi aracı kullanılmıştır [110]. Daha sonra psRNA Hedef Sunucusu (<https://www.zhaolab.org/psRNATarget/>), tanınan miRNA'ları üzümdeki HSF ve HSP90 genleriyle hizalayarak tüm varsayılan bitki ve üzüm miRNA'larını belirlemek için kullanılmıştır [111]. *Arabidopsis thaliana* model bir organizma olduğundan, *Arabidopsis*'ten HSF ve HSP90 genleriyle etkileşime giren miRNA'lar analiz için seçilmiştir. Üzümdeki HSF ve HSP genlerini hedefleyen miRNA'lar Cytoscape yazılımı kullanılarak görselleştirilmiştir [112].

3.6 VvHSFs ve VvHSP90 Genlerinin Promotör Bölge Analizi

VvHSF ve VvHSP90 gen DNA dizileri PlantCARE'e yüklenmiş, bu protein ailelerindeki cis-etkili düzenleyici bölgeler tespit edilmiştir. (<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) [113].



4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 Asmada HSP ve HSF Genlerinin Tanımlanması ve Proteinlerin Karakterizasyonu

Biyoinformatik analiz sonucunda üzüm genomunda ısı şoku transkripsiyon faktörü ve ısı şoku protein 90'ı kodlayan genler tespit edilmiştir. Tanımlanan genlere üzüm bitkisinin Latince isminin (*Vitis vinifera*) baş harfleri ön ek olarak eklenmiş ve her aileye ait genler kromozom yerleşimine göre sırayla isimlendirilmiştir.

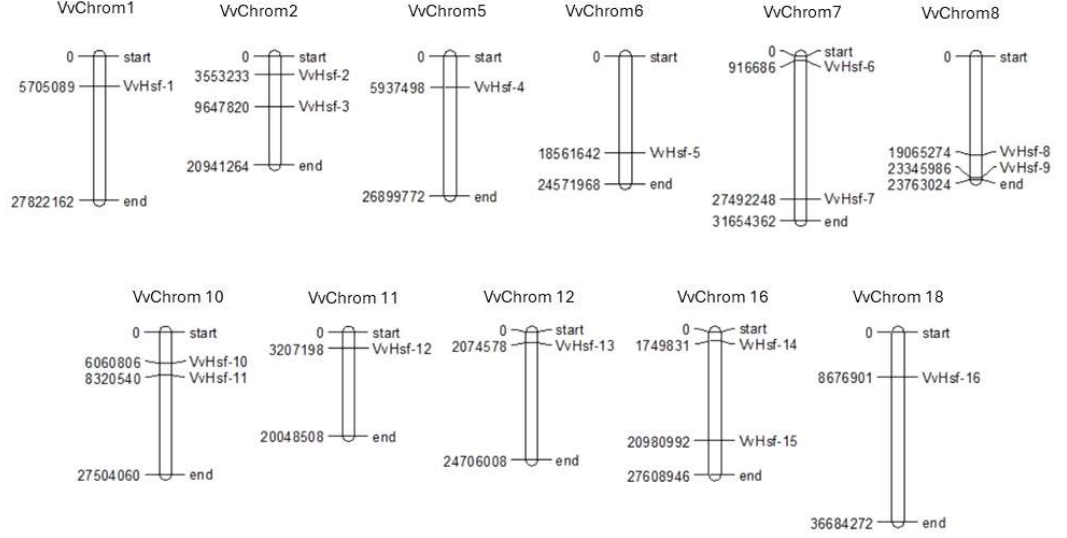
Isı şoku transkripsiyon faktörlerini kodlayan 16 VvHSF geni ve ısı şoku protein 90'ı kodlayan 22 gen tanımlanmıştır. VvHSF 200-531 amino asit uzunluğunda proteinlerden oluşmaktadır. VvHSF proteinlerinin biyokimyasal özellikleri moleküler ağırlık, teorik izoelektrik nokta ve stabilite indeksi açısından analiz edilmiştir. Moleküler ağırlıkları 22.99 - 58.81 kDa aralığında olduğu tespit edilmiştir. VvHSF ailesinin tanımlanan 16 üyesinin tümü kararsızdır. HSF proteinleri teorik izoelektrik noktaları açısından analiz edildiğinde, 12 proteinin pH 4.93 - 6.37 arasında olduğu bulunmuştur, kalan 3 proteinin ise pH 7 - 9.19 arasında olduğu görülmüştür (Ek 1).

VvHSP90 gen ailesi üyelerinin uzunlukları 369-1489 amino asit arasında değişen proteinlerden oluştuğu tespit edilmiştir. Proteinlerin moleküler ağırlıkları 41.74 - 167.38 kDa aralığında değişmektedir. 22 HSP90 proteininin 10'u kararsız, 12'si ise kararlıdır. VvHSP90 proteinlerinin 7'sinin teorik izoelektrik noktası pH>7'dir; diğer üyeler asidik karaktere pH<7 sahiptir, (Ek 2).

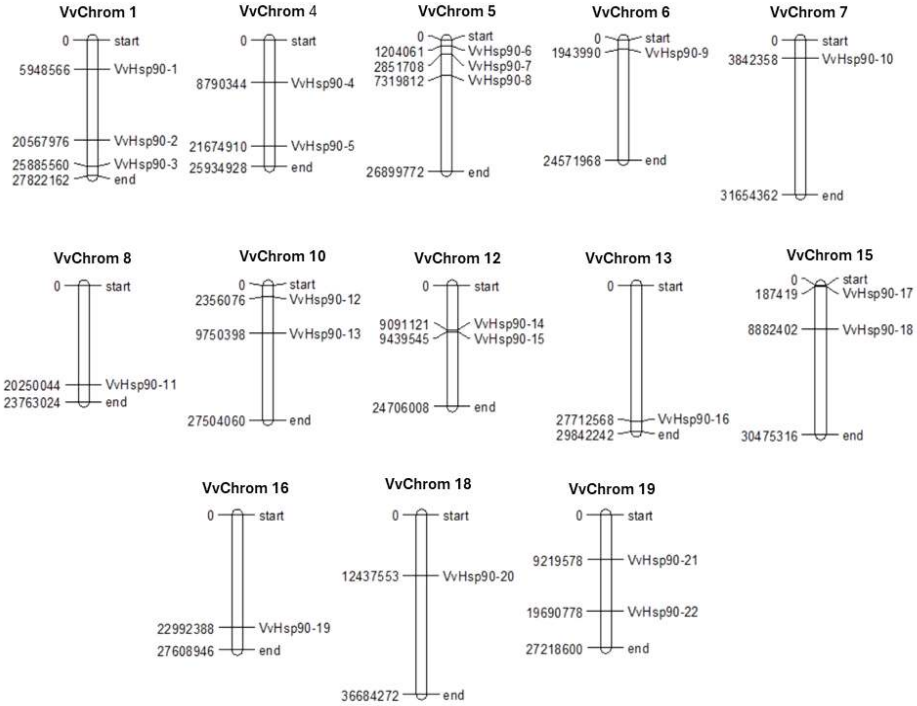
4.2 VvHSF ve vvHSP Genlerinin Kromozomal Dağılımı

Asmanın 19 kromozomu üzerindeki 16 VvHSF ve 22 VvHSP90 geninin dağılımı NCBI veri tabanından belirlenmiştir. VvHSF'nin 1, 2, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 16 ve 18. kromozomlar üzerinde dağıldığı tespit edilmiştir. Kromozom 2, 7, 8, 10 ve 16'nın her birinde 2 gen bulunmuştur (Şekil 1). VvHSP90 genleri 2,3,9,11,15 ve 17 hariç tüm

kromozomlarda yer almıştır. Kromozom 1 ve 5'te 3'er gen, kromozom 4, 10, 12, 14 ve 19'un her birinde 2 gen bulunmuştur. (Şekil 2)



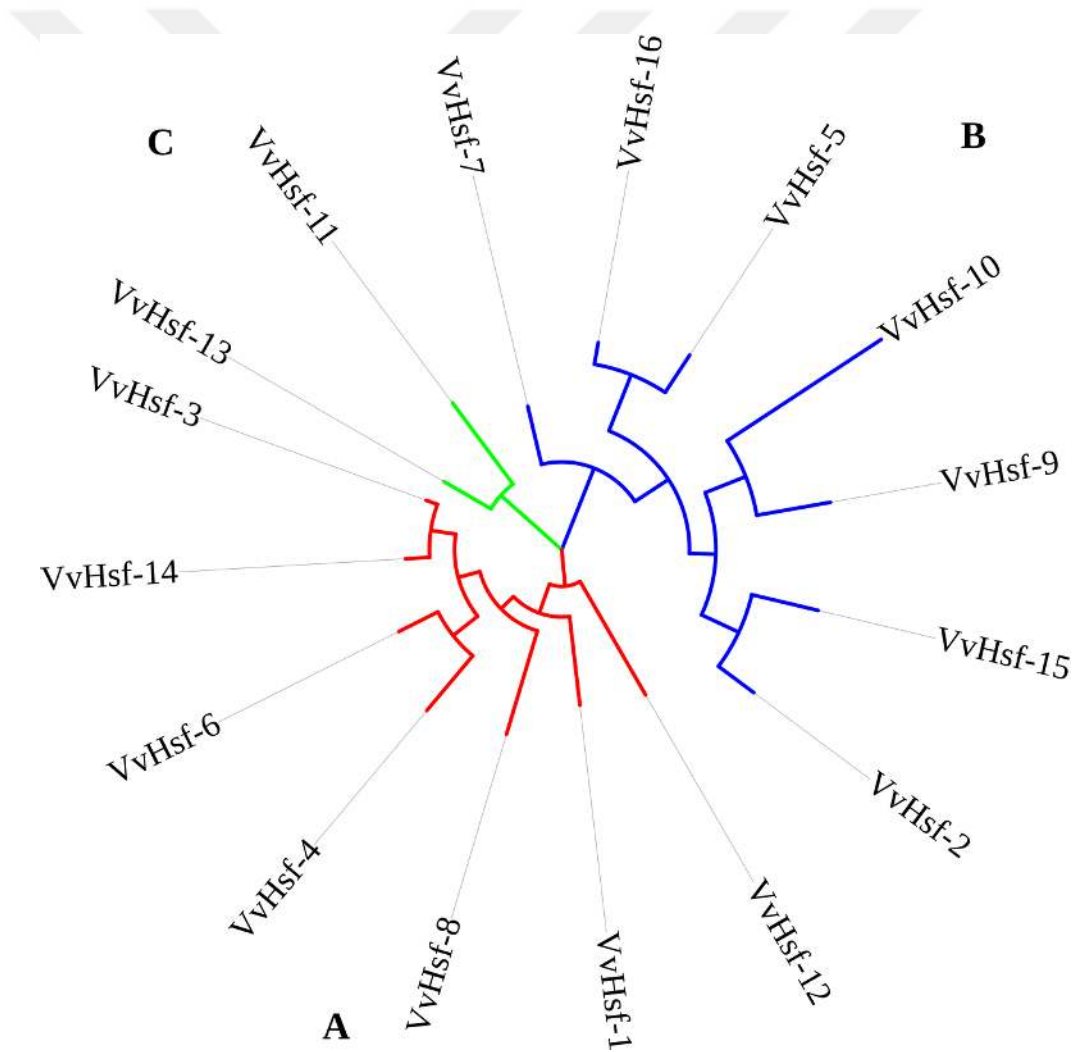
Şekil 1. VvHSF genlerinin üzüm kromozomları üzerinde dağılımı



Şekil 2. VvHSP90 genlerinin üzüm kromozomları üzerinde dağılımı

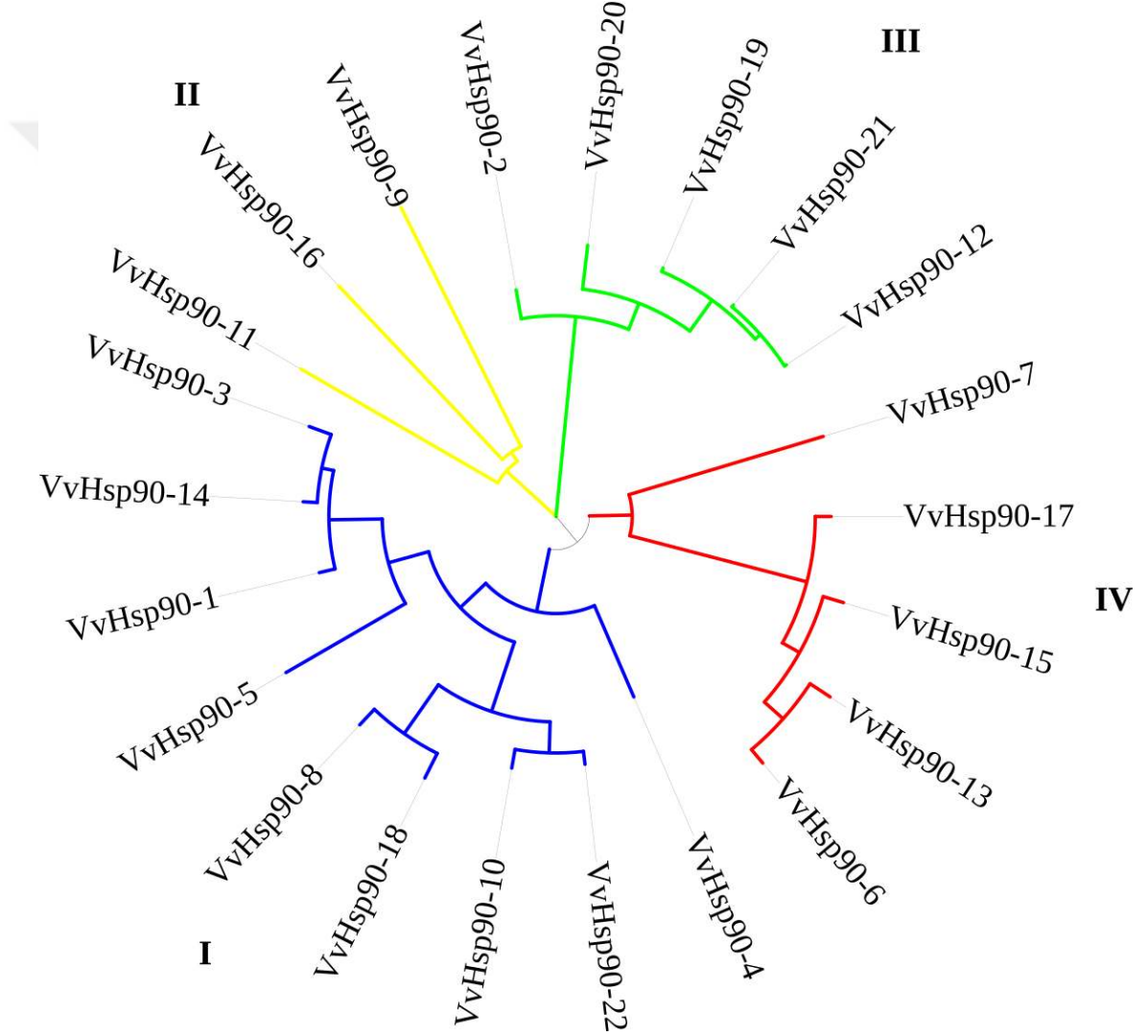
4.3 Filogenetik analiz

Üzümde saptanmış VvHSF ve VvHSP90 gen ailelerinin filogenetik ilişkilerini analiz etmek için Maksimum benzerlik yöntemi kullanılarak bir filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Bu genlerin lokus ID'leri ve dizilimleri Ek 1'de sunulmuştur. Filogenetik ağaç, 16 VvHSF geninin önceki çalışmalara göre A, B ve C olarak adlandırılan üç grupta sınıflandırıldığını ortaya koymuştur (Şekil 3).



Şekil 3. VvHSF ailesinin filogenetik ağacı

22 VvHSP90 geni için filogenetik ağaç dört ana grup tanımlamıştır. Grup I, VvHSP-1, 3, 4, 5, 8, 10, 14, 18 ve 22'yi, Grup II, VvHSP90-9, 11 ve 16'yı, Grup III VvHSP90-2, 12, 19, 20 ve 21'i içermektedir. Son grup olan Grup IV ise VvHSP-6, 7, 13, 15 ve 17'den oluşmaktadır (Şekil 4).



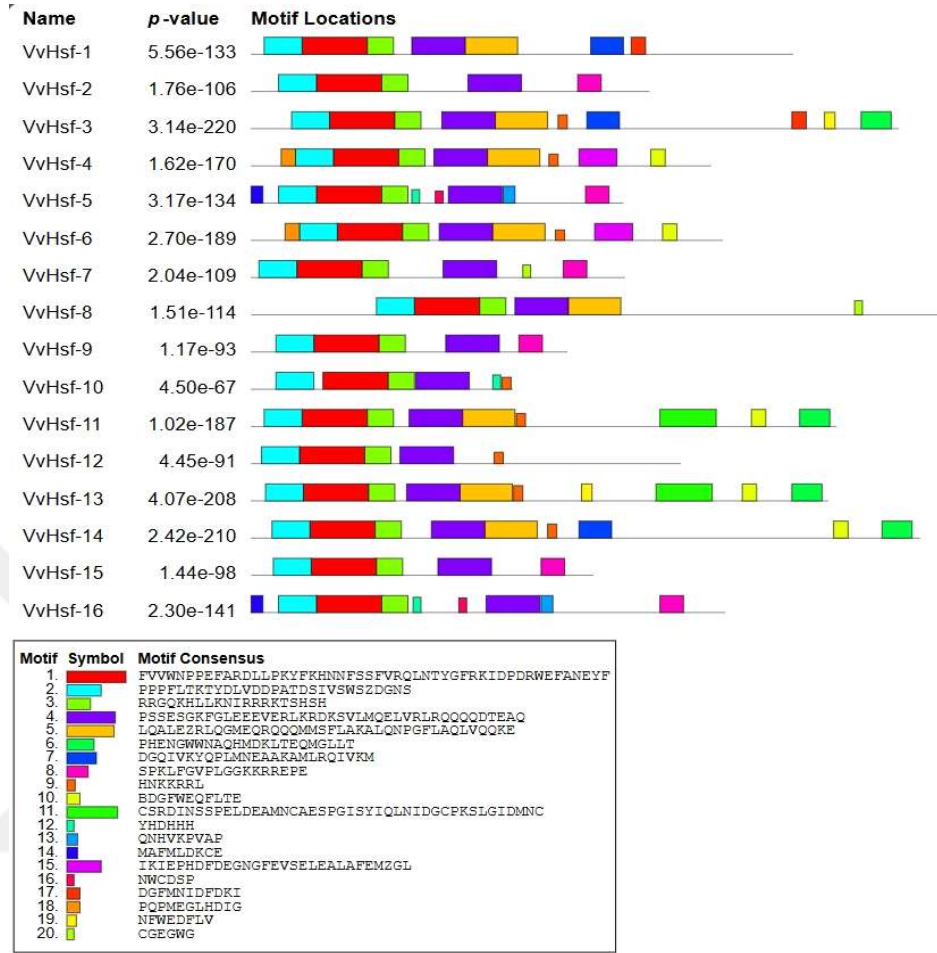
Şekil 4. VvHSP90 ailesinin filogenetik ağacı

4.4 VvHSF ve VvHSP90 Genlerinin Hücre Altı Lokalizasyonunun, Gen Yapısının ve Korunmuş Motif Yapısının Tanımlanması

VvHSF ve VvHSP90 genlerinin hücresel konumlarını tahmin etmek için CELLO v.2.5 kullanılmıştır. Sonuçlar tüm VvHSF genlerinin çekirdekte yer aldığını göstermiştir. VvHSP90 genleri için, çoğunluk sitoplazmada bulunmuştur, bazıları plazma membranında ve çekirdekte bulunmuştur. Özellikle, VvHSP90-20 endoplazmik retikulumda (ER) bulunan tek gen olmuştur.

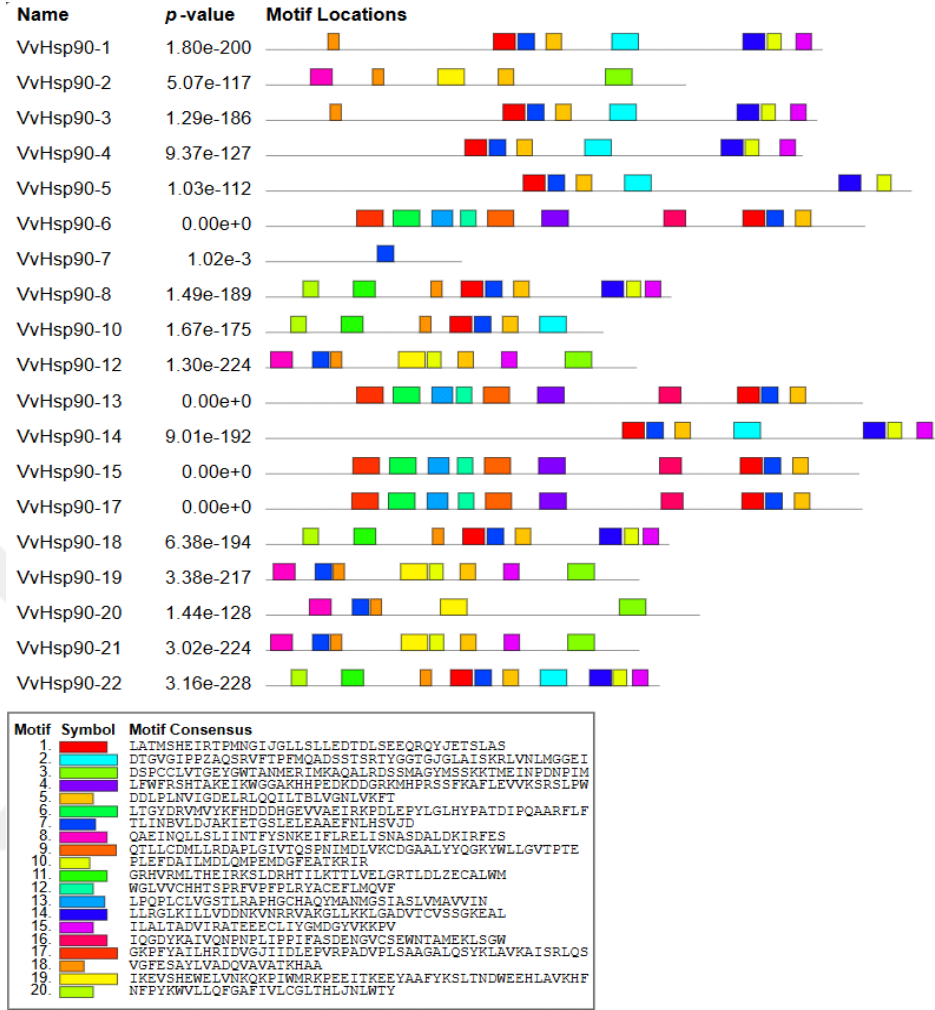
Çevrimiçi motif tanımlama aracı MEME'yi kullanarak, her protein ailesi için VvHSF ve VvHSP90 proteinlerinin yapısında 10 farklı korunmuş motif belirlenmiştir. Sonuçlar, en yakın ilişkili üyelerin benzer motif türünü, sayısını ve konumunu paylaştığını ve bu proteinler arasında olası işlevsel benzerlikler olduğunu göstermektedir.

16 VvHSF proteininin tamamı için dört motif (motif 1, motif 2, motif 3 ve motif 4) tutarlı bir şekilde mevcuttur. Motif 5, VvHSF-2, VvHSF-5, VvHSF-7, VvHSF-9, VvHSF-10, VvHSF-12 ve VvHSF-16 dışındaki proteinlerin çoğunda bulunmuştur. C grubunda (VvHSF-11 ve VvHSF-13'ten oluşan) proteinler aynı motifleri içermektedir. B grubundaki proteinler de aynı motif desenlerine sahip çiftlere sahip olduğu görülmüştür. VvHSF-6 ve VvHSF-4, VvHSF-14 ve VvHSF-3 gibi aynı motifleri paylaşmaktadır. Benzer şekilde, VvHSF-5 ve VvHSF-16 ile VvHSF-2 ve VvHSF-15 de benzer motiflere sahiptir. Bu gruplar içindeki diğer proteinler bir veya iki motifle farklılık göstermiştir. (Şekil 5)



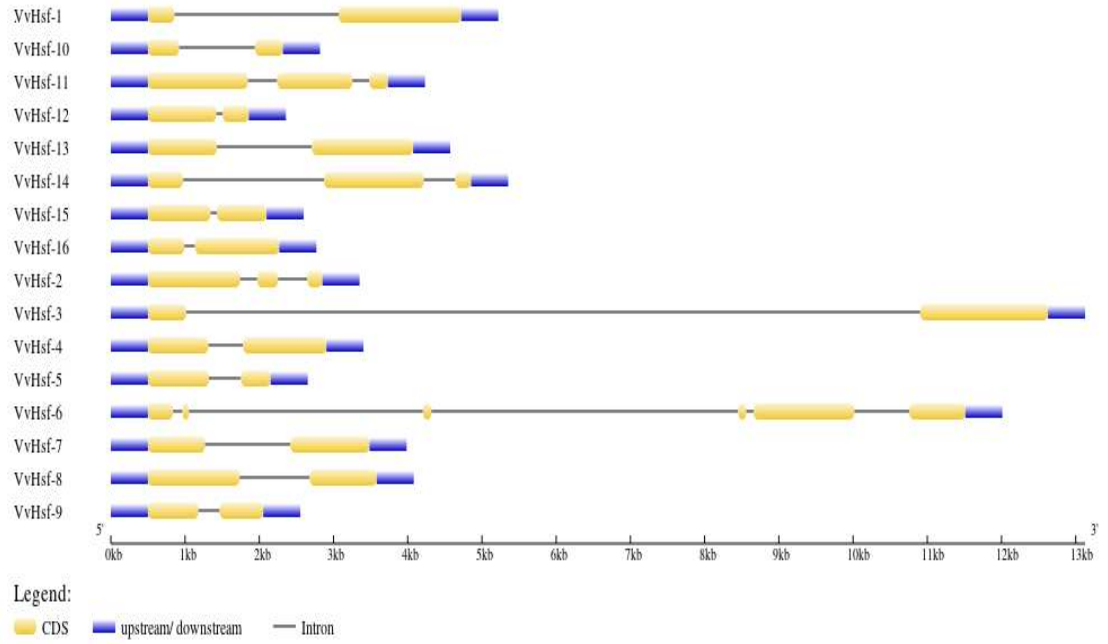
Şekil 5. VvHSF ailesinin korunmuş motif organizasyonları

VvHSP90 proteinlerinin motiflerinde de benzer bir model gözlenmiştir. Aynı grup içindeki proteinler benzer motif desenleri ve yapılar sergilemiştir. Örneğin, grup I'de VvHSP90-7 dışındaki tüm üyeler benzer bir motif yapısı oluşmuştur. Grup II'de, VvHSP90-20 ve VvHSP90-2 ile küçük farklılıklar bulunmasına rağmen, motif desenleri tutarlılık göstermiştir. Grup III'te, VvHSP90-4 ve VvHSP90-14, VvHSP90-8 ve VvHSP90-18 ve VvHSP90-10 ve VvHSP90-22 gibi alt üyeler de benzer motif desenleri sergilemiştir. (Şekil 6)



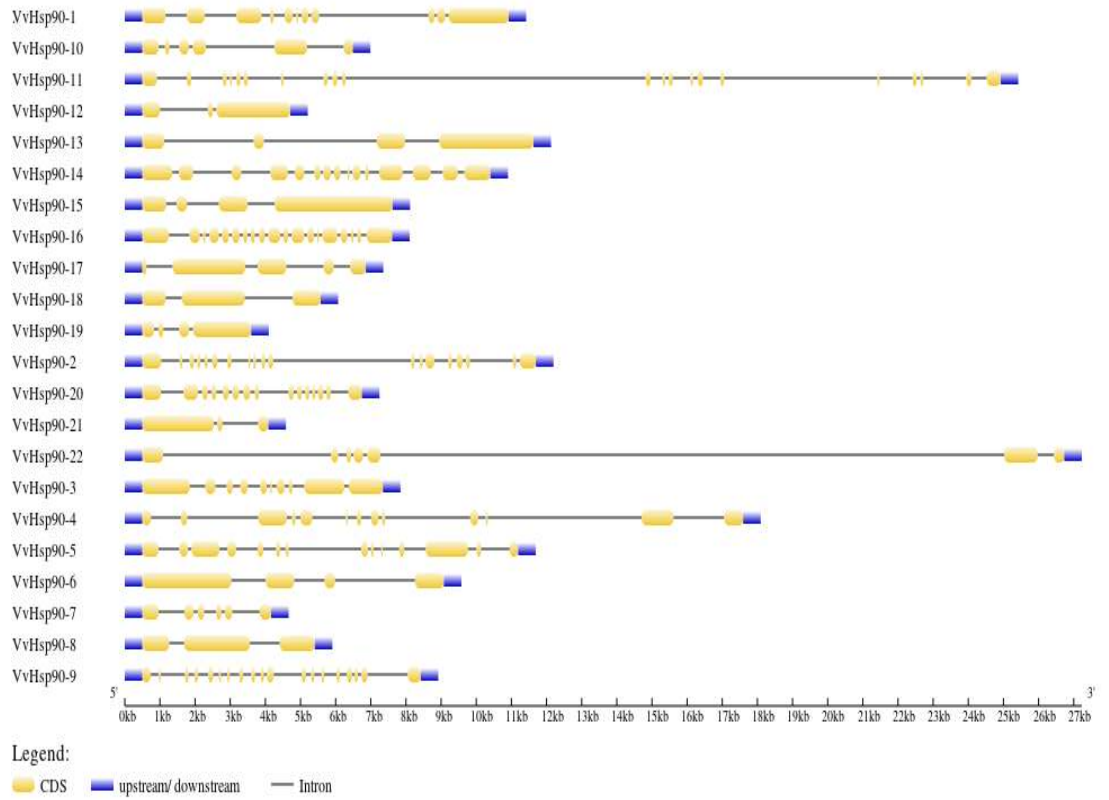
Şekil 6. VvHSP90 ailesinin korunmuş motif organizasyonları

VvHSF ve VvHSP90 genlerinin yapısal özelliklerini daha iyi anlamak için ekzon/intron yapıları analiz edilmiştir. İntron sayısı VvHSF genleri arasında 1 ila 5 arasında değişmekte olup, çoğunda bir intron bulunmaktadır. Ayrıca, her ikisi de şekil 7'de gösterildiği gibi daha uzun intron uzunluğuna sahip olan VvHSF-3 ve VvHSF-6 dışında intronlar yaklaşık olarak aynı boyuttadır.



Şekil 7. VvHSF genlerinin ekzon-intron bölgelerinin organizasyonu

VvHSP90 genleri için intron sayısı 2 ile 20 arasında değişmektedir. VvHSP90-11, 20 ile en yüksek intron sayısına sahiptir ve çoğu VvHSP90 geninde 5'ten fazla intron bulunmaktadır. Şekil 8

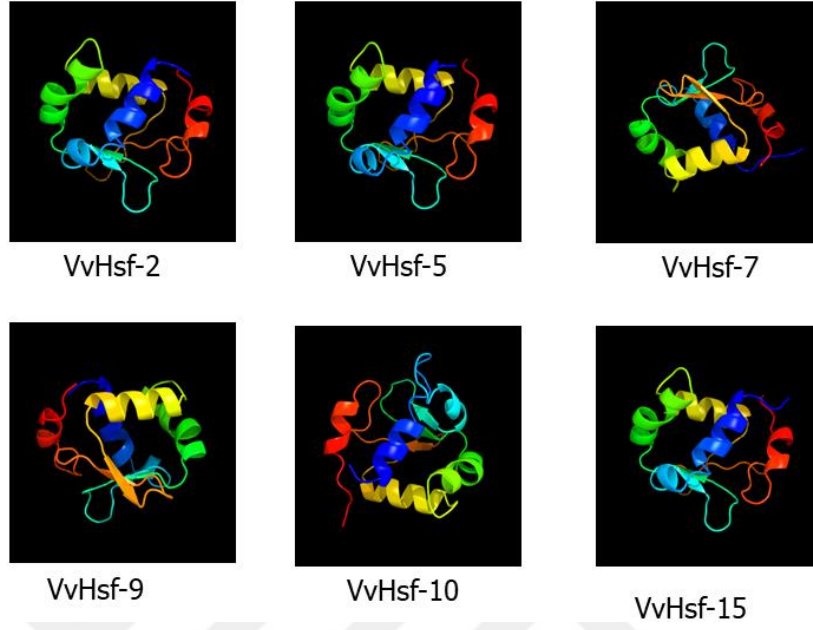


Şekil 8. VvHs90 genlerinin ekzon-intron bölgelerinin organizasyonu

4.5 HSF ve HSP90 Proteinlerinin 3 Boyutlu Homoloji Modellemesi

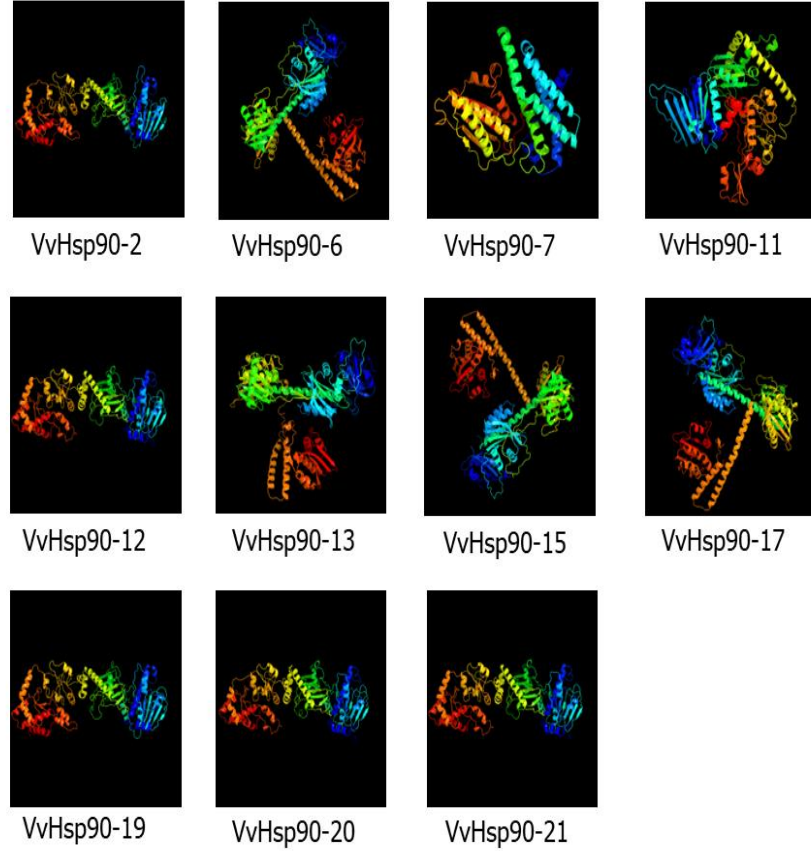
VVHSF ve VvHSP90 proteinlerinin 3 boyutlu tahmin edilen yapıları ≥ 90 güven seviyesi ve ≥ 75 benzerlik kriterleri ile belirlenmiştir.

VvHSF ailesinden 6 proteinin yüksek homoloji ile modellendiği ve bu proteinlerin yapısına α -heliks katlanmasının hakim olduğu tespit edilmiştir (Şekil 9).



Şekil 9. VvHSF proteinlerinin öngörülen üç boyutlu yapıları

VvHSP90 ailesinden 22 proteinin üç boyutlu yapısı ≥ 90 güven düzeyi ve ≥ 75 benzerlik kriterlerine uygun olarak modellenmiştir. Modellenen proteinlerde α -heliks katlanma yapısının öne çıktığı görülmüştür (Şekil 10).

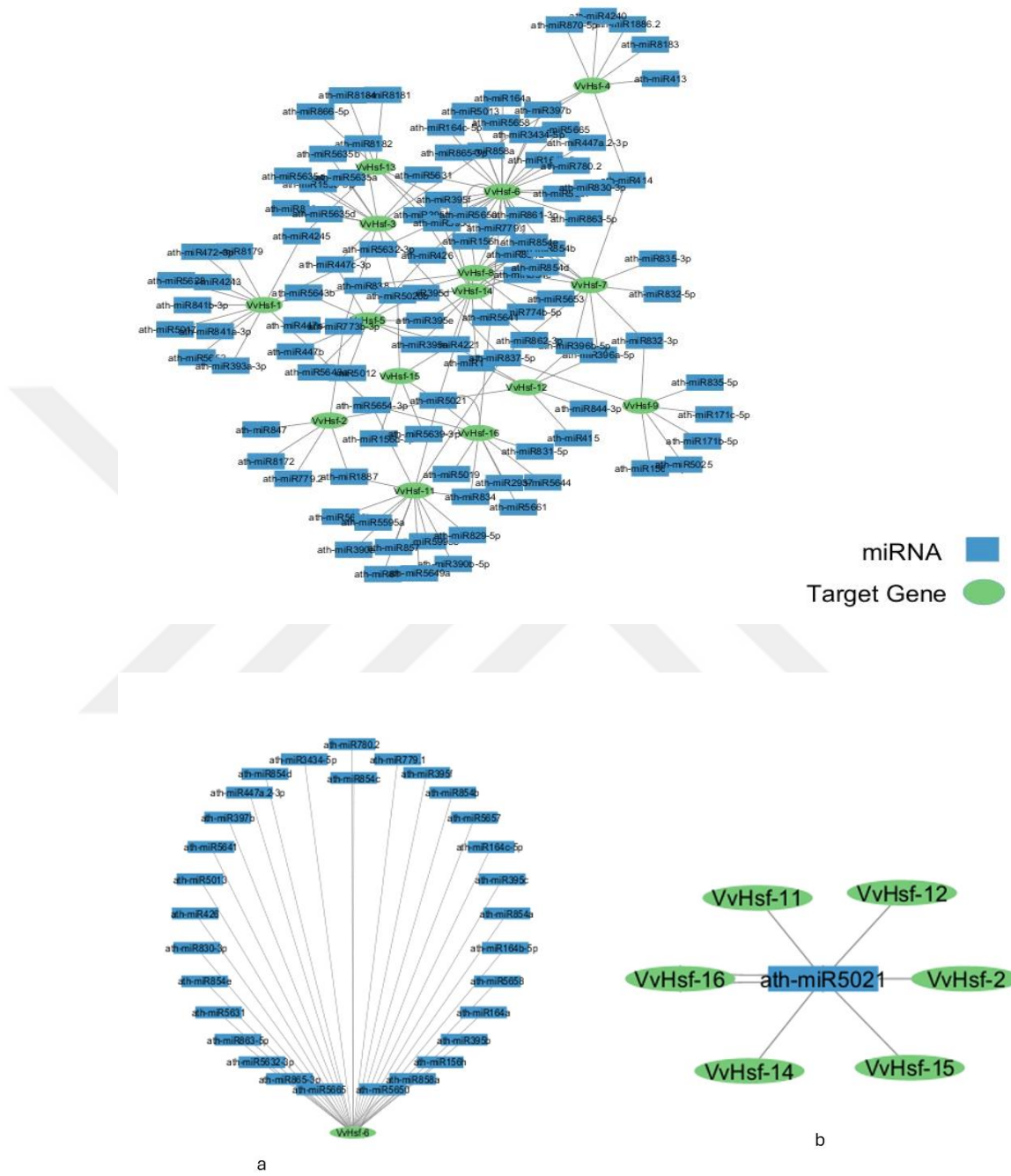


Şekil 10. VvHSP90 proteinlerinin öngörülen üç boyutlu yapıları

4.6 VvHSF ve VvHSP90 Genlerini Hedef Alan miRNA'ların Tespit Edilmesi

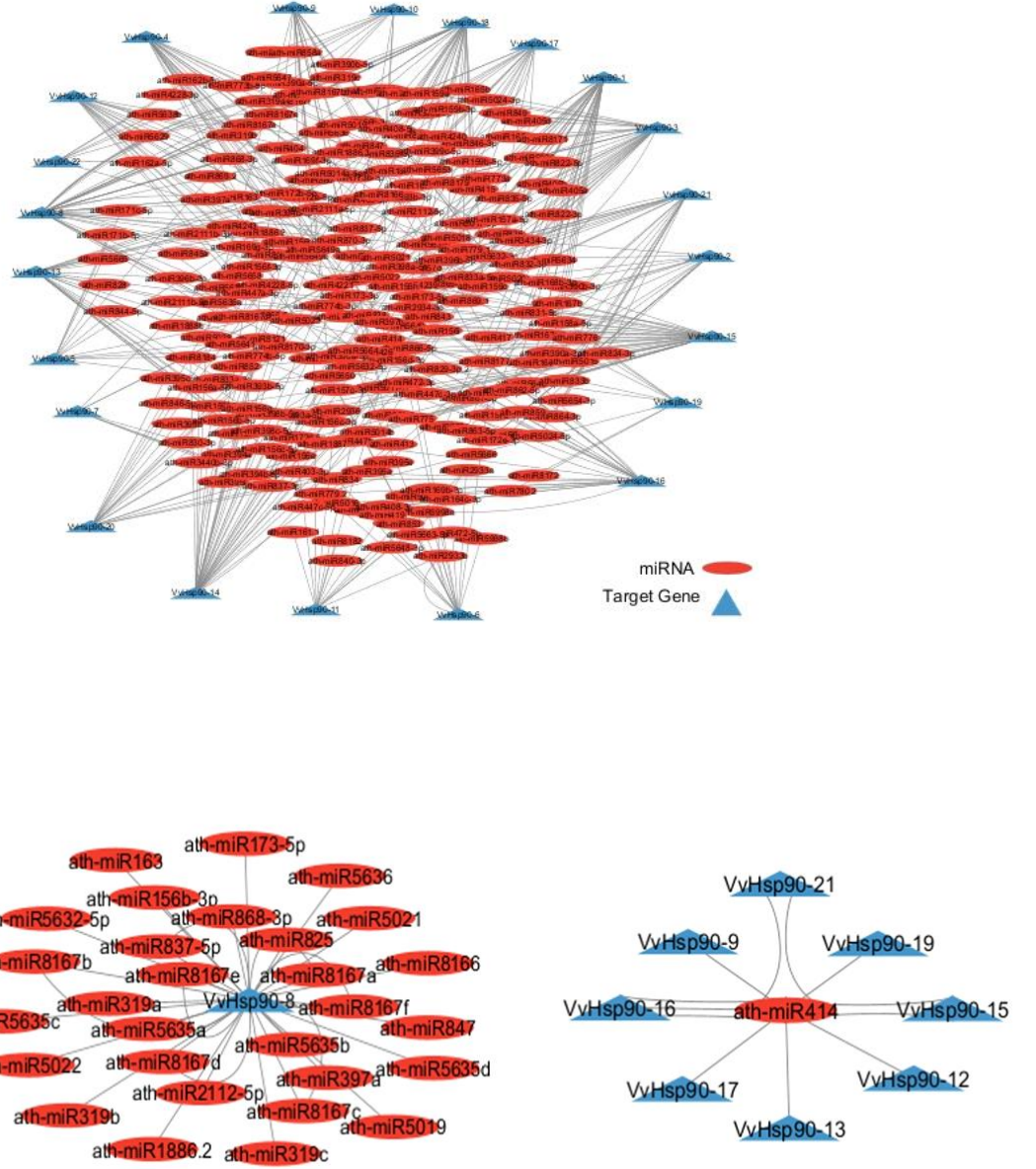
Arabidopsis thaliana'dan elde edilen veriler kullanılarak, VvHSF ve VvHSP genlerini hedefleyen miRNA'lar ve hedeflenen transkriptler psRNATarget veritabanında analiz edilmiştir.

VvHSF genlerini hedefleyen miRNA'lar değerlendirildiğinde, 6 farklı genle ilişkilendirilen miR5021'in en çok hedeflenen miRNA olduğu tespit edilmiştir. VvHSF-6 ise 30 farklı miRNA tarafından hedeflenerek en çok ilişkilendirilen gen olarak bulunmuştur (Şekil 11).



Şekil 11. VvHSF genlerini hedef alan miRNA'lar

VvHSP90 genleri ile miRNA'lar arasındaki ilişki incelendiğinde, VvHSP90-8 geninin 36 hedefleme etkileşimi ile en çok hedeflenen gen olduğu belirlenmiştir. miR414, VvHSP90 ailesindeki 8 geni etkileyerek en çok VvHSP90 genini hedefleyen miRNA olmuştur. (Şekil 12)



Şekil 12. VvHSP90 genlerini hedef alan miRNA'lar

4.7 VvHSF ve VvHSP90 genlerindeki Cis-etkili düzenleyici unsurların tanımlanması

VvHSF ve VvHSP90 genlerinin transkripsiyonel düzenlemedeki işlev ve mekanizmalarını daha iyi anlamak için, PlantCARE veritabanı kullanılarak cis-acting elementler tanımlanmıştır. Bu elementler arasında absisik asit (ABA) duyarlı element (ABRE), gibberellin (GA) duyarlı elementler (P-box, GARE-motif ve TATC-box), oksin (IAA) duyarlı elementler (TGA-element, AuxRR-core ve TGA-box) ve jasmonik asit (MeJA) duyarlı elementler (CGTCA-motif ve TGACG-motif) gibi hormon yanıt elementleri bulunmaktadır. Ek olarak, düşük sıcaklığa duyarlı element (LTR), yaraya duyarlı element (WUN-motif), savunmaya duyarlı element (W kutusu) ve savunma ve strese duyarlı element (TC-zengin tekrarlar) dahil olmak üzere strese bağlı elementler tanımlanmıştır (Ek 3).

Cis-etkili elementler tüm VvHSF ve VvHSP90 genlerinde bulunmuştur. Büyüme ve hormon tepkisi ile ilgili 100'den fazla element tespit edilmiştir. Özellikle, ışığa duyarlı elementlerle birlikte düşük sıcaklığa duyarlı elementler çoğu VvHSF genlerinde bulunmuştur. Ek olarak, VvHSP90 gen ailesinde stres, ışık ve sıcaklık tepkisi ile ilişkili 200'den fazla element tanımlanmıştır (Ek 4), bu gen ailelerinin hormon, stres, ışık ve sıcaklık duyarlılığına dahil olabileceğini düşündürmektedir. Hem VvHSF hem de VvHSP90 protein ailelerinde diğer spesifik düzenleyici unsurlar da tanımlanmıştır.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1 VvHSF Ailesinin Biyoinformatik Analizleri

Isı şoku transkripsiyon faktörleri (HSF) genellikle tüm bitkilerde bulunur ve çevresel stres faktörlerinin düzenlenmesinde önemli olduğu düşünülmektedir. Bu araştırmada asma genomunun analizi sonucunda 16 VvHSF geni tespit edilmiştir. Daha önce mevcut genom verilerini kullanarak diğer üzüm çeşitlerinde yapılan geçmiş çalışmalardan, hem *Vitis flexuosa*'da [91] ve *Vitis davidii*'de 19 HSF tanımlanmıştır [114]. *Arabidopsis*'te (*Arabidopsis thaliana*) 21 HSFs [29], Domateste (*Solanum lycopersicum*) 27 tane [92], pirinçte (*Oryza sativa*) 28 adet [88], Elmada (*Malus domestica*) 36 [89], kabakta 36 [115], Japon kayısısında ve şeftalide 18 tane [116], [117] tanımlanmıştır. Asma genomunda tanımlanan HSF genlerinin sayısının önceki çalışmalara kıyasla daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bunun olası bir nedeni, farklı üzüm türlerinin kullanılması (*Vitis flexuosa* ve *Vitis davidii* Asya orijinli türlerdir) ve farklı çevresel koşullara adaptasyon gerekliliği olabilir. Ayrıca, VvHSF gen ailesi üyeleri belirli işlevleri yerine getiren daha az üyeye yol açan fonksiyonel bir uzmanlaşmaya uğramış olabilirler.

Tanımlanan VvHSF proteinlerinin fizikokimyasal özellikleri incelendiğinde, molekül ağırlıklarının 22,99 - 58,81 kDa arasında değiştiği, teorik izoelektrik noktaları açısından çoğunlukla asidik pH'da oldukları tespit edilmiştir. Literatürde tanımlanan HSF proteinlerinin çoğunlukla asidik olduğu bulgusu verilerimizle örtüşmektedir [14], [115]. VvHSF genlerinin asma genomundaki 19 kromozomdan 11 kromozomda yer aldığı tespit edilmiştir. Bu genlerin kromozomlar üzerindeki yerleşimi, kromozom üzerinde dağılmış göründükleri için homojene yakın bulunmuştur. Bu durum, diğer bitki türlerinde görülen homojen kromozom dağılımıyla uyumlu görünmektedir [14], [115].

Tanımlanan VvHSF proteinlerinin filogenetik ağacında, proteinlerin Grup A, Grup B ve Grup C olarak kümelendiği saptanmıştır. Bu durum, çeşitli bitkilerde HSF ile ilgili tüm çalışmalarda kaydedilenle aynıdır [14], [42], [90], [114], [118]. İntronlar gen ifadesini ve düzenlenmesini etkilediğinden, genlerdeki yapıların nasıl olduğunu bulmak

önemlidir. Filogenetik ağaçta aynı düğüme bağlı genlerin ekzon-intron diziliminin benzer olması da dikkat çekicidir. Her biri 2 intron içeren VvHSF-2, 11 ve 14 ve özellikle 5 intron içeren VvHSF-6 dışında VvHSF genleri genelinde tutarlı sayıda intron görülmüştür. Tutarlı intronların varlığı, bu genlerde ortak bir atasal kökene işaret edebilirken [119] ve diğer 5 üyede gözlemlenen varyasyon, gen duplikasyonu gibi daha yeni bir evrimsel değişikliği gösteriyor olabilir [120].

Tüm VvHSF proteinleri tanımlanmış 1, 2, 3 ve 4 numaralı motifleri içermektedir. Ayrıca, aynı gruptaki VvHSF proteinlerinin benzer motif dağılım modelleri sergilediği görülmüştür. Dolayısıyla, bu proteinler aynı ailenin motifleri oldukları için gen ifadesini kontrol etmede önemli olan benzer özellikleri ve işlevleri paylaşmaktadırlar [121], [122]. Proteinlerde benzer motiflerin varlığı, paylaşılan işlevleri ile ilişkilidir. Bu aynı zamanda, benzer motiflerin aynı biyolojik süreçlerle ilişkilendirildiği ve yüksek fonksiyonel korumayı gösteren çalışmalarla benzerdir [123]. Her alt gruptaki HSF üyelerinin benzer motiflere sahip olduğu Mısır (*Zea mays* L.) [124], Fasulye (*Phaseolus vulgaris*) [125], *Populus trichocarpa* [35] ve Şeftalide (*Prunus persica*) [117] görülmüştür.

Tanımlanan 16 VvHSF geninin ağırlıklı olarak çekirdekte yer aldığı bulunmuştur. Bu çekirdek lokalizasyonu, HSF'lerin bilinen işlevleriyle uyumludur, HSF'lerin ısı şoku proteinlerinin ve diğer stres yanıt genlerinin ekspresyonunu düzenleyen transkripsiyon faktörleri olarak işlev gördüklerini göstermektedir [4], [30]. Bu genlerin çekirdekte bulunması, stres koşulları altında transkripsiyonel düzenlemedeki rollerini vurgulamaktadır. Önceki çalışmalar benzer şekilde diğer bitki türlerinde de HSF genlerinin nükleer lokalizasyonunu rapor etmiştir. Mısır (*Zea mays* L.) üzerinde yapılan çalışmada, ağırlıklı olarak çekirdekte lokalize olan ve farklı streslere yanıt olarak hedef genlerin transkripsiyonunu başlatma işlevi gören HSF genleri tanımlanmıştır [124]. Kabak (*Cucurbita moschata*) ve Salatalıkta (*Cucumis Sativus* L.) yapılan çalışmalarda, HSF genlerinin çoğunun da çekirdeğe lokalize olduğu ve burada soğuk stres, ısı stresi, hormonlar ve salisilik asit ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynadıkları bulunmuştur [14], [115]. HSF genlerinin çekirdekteki lokalizasyonu, transkripsiyonel düzenleyiciler olarak işlevleri için kritik bir öneme sahiptir. Bu genler çekirdekte bulunarak, ısı şoku proteinlerinin ve diğer koruyucu genlerin transkripsiyonunu aktive ederek ısı stresine hızlı

bir şekilde yanıt verebilir. Bu, termal strese hızlı ve etkili bir yanıt verilmesini sağlayarak bitkinin hücrel homeostazı sürdürmesine ve hasara karşı korunmasına yardımcı olmaktadır.

HSF proteinlerinin bitkilerde düşük ve yüksek sıcaklık gibi abiyotik stres koşullarında düzenleyici rol oynadığı bilinmektedir [14]. VvHSF ailesinden 6 proteinin üç boyutlu yapısı ≥ 90 güven seviyesi ve ≥ 30 benzerlik kriterlerine uygun olarak modellenmiştir. Modellenen proteinlerde β -tabaka katmanları bulunmasına rağmen baskın yapının α -helikal katlanma olduğu görülmüştür. Çalışmamızda ve önceki çalışmalarda da, HSF yapısında yüksek oranda korunmuş DNA bağlanma alanının α -heliks demeti ile karakterize edildiği görülmektedir. VvHSF genleri ve miRNA arasındaki ilişki analiz edildiğinde, VvHSF-6 gen transkriptlerinin en çok hedeflenen transkript olduğu ve miR5021'in VvHSF gen transkriptlerine en çok hedeflenen miRNA olduğu bulunmuştur.

miR5021'in altı farklı VvHSF geniyle ilişkisi, *Vitis vinifera*'da termal stres tepkilerini kontrol eden düzenleyici ağdaki merkezi rolünü göstermektedir. Isı Şoku Faktörleri, bitki hücrelerini ısı stresinden kaynaklanan hasarlardan koruyan ısı şoku proteinlerinin (HSP'ler) ekspresyonunu aktive eden transkripsiyon faktörleridir. MiR5021, birden fazla HSF genini hedefleyerek bu önemli genlerin ifadesine regule edebilir ve böylece bitkinin ısı stresine tepkisini iyileştirebilir. *Arabidopsis thaliana* gibi model bitkilerde yapılan önceki çalışmalar miR5021'in strese yanıt yollarında yer aldığını göstermiştir [126]. Asmada, miR5021'in birden fazla HSF genini hedeflemesi benzer bir role işaret edebilir ve stres düzenlemesinde evrimsel olarak korunduğunu ve önemini ortaya koyabilir.

Vitis vinifera'daki HSF genlerinde, ABRE, GA'ya duyarlı elemanlar (P-box, GARE-motif, TATC-box), oksin'e duyarlı elemanlar (TGA-element, AuxRR-core, TGA-box) ve JA'ya duyarlı elemanlar (CGTCA-motif, TGACG-motif) dahil olmak üzere çeşitli hormona duyarlı elemanlar içerdikleri gözlemlenmiştir. Bu elementler, ABA, GA, oksin ve JA'nın bitki stres tepkileri ve gelişiminde önemli roller oynadığına dair bulgularla uyumlu olarak, HSF genlerinin birden fazla fitohormon tarafından düzenlendiğini

göstermektedir [127], [128]. LTR (Düşük sıcaklığa duyarlı eleman), ACE (ışık duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsurlar ve TC-zengin tekrarlar (Savunma ve strese duyarlı eleman) gibi diğer unsurlar da tahmin edilmiştir. Bu elementlerin varlığı, VvHSF genlerinin farklı stres koşulları altında hızlı bir şekilde yanıt verebildiğini, fizyolojik ve metabolik dengeyi koruduğunu, olumsuz ortamların neden olduğu hasarı azalttığını ve üzümlerin normal büyümesini desteklediğini göstermiştir

5.2 VvHSP90 Ailesinin Biyoinformatik Analizleri

Üzümlerde HSP90 genlerinin genomunun yaygın olarak incelenmesi, bu genlerin daha iyi anlaşılması ve sınıflandırılması için büyük önem taşımaktadır; bir bitkinin stres yönetimindeki kritik rolleri nedeniyle özelliklerinin ve işlevlerinin anlaşılmasına yardımcı olabilir. Bu araştırmada, on üç kromozom üzerinde rastgele dağılmış 22 VvHSP90 tespit edilmiştir. Protein konumunun tahmini, VvHSP90 genlerinin çoğunun sitoplazma, plazma zarı ve mitokondride lokalize olduğunu göstermiştir (Ek 2), hücrel homeostaz, enerji metabolizması ve çoklu organellerde stres yanıt mekanizmalarında önemli bir rollerinin olduğunu göstermektedir [79], [129].

Ekzon-intron konfigürasyonundaki varyasyon, çoklu gen ailelerinin evrimsel ve işlevsel analizi için önemli bir referanstır [130]. Bu çalışmada, 2 intron içeren VvHSP90-8, 12, 18 ve 21 hariç gen üyeleri genellikle yüksek sayıda intron içermektedir. Daha az sayıda intron içeren ya da hiç içermeyen genlerin çeşitli stres koşullarında daha kolay aktive olduğu ya da hızlı yanıt verdiği belirtilmektedir [131]. Bununla beraber, diğer araştırmalardan elde edilen sonuçlar incelendiğinde intron sayısı ile genlerin ifade edilme oranı arasında pozitif bir korelasyon olduğu bildirilmiştir [132]. [133] Naa50 genindeki bir intronun silinmesinin *Arabidopsis*'in belirli dokularında ekspresyonunu azalttığını bulmuştur. Bu nedenle, VvHSP90 genleri genellikle yüksek sayıda intron içerdiğinden, çevresel stres aşamalarında yüksek intron sayısı ile gen ifadesinin yüzdesinin artırıldığı söylenebilir.

HSP90 diğer proteinlerin katlanmasında ve stabilizasyonunda önemlidir [81]. Bu da bitkinin dış stres faktörlerine hızla yanıt vermesine yardımcı olmaktadır. VvHSP90

genleri için miRNA analizi yapıldığında, miR414'ün diğerlerine kıyasla daha fazla sayıda geni hedeflediği bulunmuştur. miRN414'ün turp bitkisinde (*Raphanus sativus L.*) tuz stresi yanıtının düzenlenmesinde rol oynadığı bildirilmiştir [134]. Bu özel miRNA'nın daha önce *Arabidopsis thaliana* ve *Oryza sativa* hariç diğer bitkilerin genomunda bulunmadığı bildirilmiş olmasına rağmen [135]; yeni çalışmalar ile beraber Şeker Otu (*Stevia rebaudiana*) gibi bitkilerde de saptanmıştır. [134], [136]. Elde edilen sonuçlar, bu miRNA'nın daha fazla VvHSP90 geniyle bağlandığını öngörmüştür. VvHSP90 genlerinin miRN414 ile olan yakın ilişkisi *Vitis vinifera* genomundaki varlığını gösterebilir.

miR414 dışında, miR167 (miR167a, b, c, d, e, f) ailesinin *Vitis vinifera*'da birkaç HSP-90 genini hedef aldığı tahmin edilmiştir. Bu miRNA ailesi, bitkilerde stres tepkileri ve çeşitli gelişimsel süreçlerdeki önemli rolleri nedeniyle tarımsal üretimdeki önemli potansiyeli ile dikkat çekmektedir. miR167, bitki üreme organı gelişimi, çiçeklenme zamanı, tohum ve meyve gelişimi ve stres direncinin düzenlenmesinde rol oynamaktadır [137]. miR167'nin değeri birçok bitki türünde belirlenmiştir. Örneğin, mısır (*Zea mays*) [138], soya fasulyesi [139] ve pirinçte (*Oryza sativa*) [140], [141] miR617'nin kritik fizyolojik süreçleri düzenlediği bildirilmiştir. Bu çalışmalarda, miR167'nin mahsul verimliliğini ve stres toleransını artırmada geniş uygulanabilirliğini vurgulayarak, tarımda genetik iyileştirme için değerli bir hedef haline getirmektedir.

VvHSP90 ailesi genlerinin CAREs analizi, bunların ışık duyarlılığı, düzenleyici unsurlar, promotör ve arttırıcı unsurlar, protein bağlama ve diğer gelişimsel duyarlı unsurlarla ilişkili olabileceğini göstermiştir. VvHSP90'da bulunan CARE'ler, VvHSP90'ların sadece strese duyarlı olmadığını, aynı zamanda ışık, hormonlar veya gelişim aşamaları tarafından düzenlenebilen birçok farklı süreçte de yer aldığını göstermektedir. VvHSP90 dizisinde transkripsiyon ve translasyon sürecini kontrol ettiği bilinen düzenleyici unsurların varlığı, gelişim ve çevresel tepkiler için önemlidir [142]. Benzer şekilde, VvHSP90 genlerinde gözlemlenen promotör ve çoğaltıcılar (enhancer), çeşitli çevresel faktörlere yanıt olarak gen ifadesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Bulundukları genlere transkripsiyon faktörlerini (TF'ler) ve diğer düzenleyici proteinleri toplayarak gen ifadesinin etkinleştirilmesinde çok önemli bir rol

oynamaktadırlar [143]. Bu durum, VvHSP90 genlerinin, promotör bölgelerinde bol miktarda arttırıcı elementlerin varlığı stres tepkisindeki temel rolünü gösteriyor olabilir.

Ek olarak, bu genlerde ABA'ya duyarlı elementlerin, LTRE'nin ve yaraya duyarlı elementlerin bulunması, Absisik asit (ABA), ışık ve yaraya yanıt olarak işlev görmelerinin muhtemel olduğunu göstermektedir. Bu da HSP90'ların çoklu streslerde önemli roller oynadığını göstermektedir [79]. Genel olarak, gen ifadesini düzenlemek için moleküler anahtarlar olarak işlev gören VvHSP90 genlerinde olduğu tahmin edilen cis elementleri, gelişim, stres tepkisi ve bitki evrimi gibi süreçleri etkileyen çok önemli unsurlardır.

5.3 Sonuç

Küresel iklim değişikliği ve artan sıcaklıklarla ilgili endişeler göz önüne alındığında, Isı Şoku Faktörleri (HSF'ler) ve Isı Şoku Proteinleri (HSP'ler) gibi termotolerans ile ilişkili proteinlerin anlaşılması giderek daha önemli hale gelmektedir. Bu proteinler, bitkilerin stres koşulları altında, özellikle de tarım ve bahçecilik alanlarında önemli bir sorun olan ısı stresi altında hayatta kalmalarına ve gelişmelerine yardımcı olmada kritik bir rol oynamaktadır. Bu çalışmada, asma (*Vitis vinifera* L.) genomundaki HSF ve HSP90 gen ailelerini analiz etmek için kapsamlı bir biyoinformatik yaklaşım kullanılmıştır. Bu analizler sonucunda, 16 VvHSF ve 15 VvHSP90 geni başarıyla tanımlanmıştır. Sonraki analizler kromozomal lokalizasyon, filogenetik ilişkiler, gen yapısı, korunmuş motifler, miRNA analizi ve cis-acting elementleri içermektedir. Bu analizler, VvHSF ve VvHSP90 gen ailelerinin özelliklerini ve evrimsel mekanizmalarını ortaya çıkarmayı amaçlamıştır.

Kromozomal lokalizasyon analizi, bu genlerin asma kromozomları üzerindeki spesifik konumlarını ortaya koyarak genomik dağılımları hakkında bilgi sağlamıştır. Filogenetik analiz, HSF ve HSP90 genleri arasındaki evrimsel ilişkileri anlamaya yardımcı olmuş, potansiyel işlevsel çeşitlilikleri ve evrimsel korumayı göstermiştir. İntron-ekzon organizasyonunu içeren gen yapısı analizi, bu genlerin karmaşıklığı ve düzenleyici mekanizmaları hakkında önemli ipuçları sunmuştur. Korunmuş motifler ve cis-etkili elementler analizi, bu genlerin ısı stresine yanıtlarında önemli roller

oynayabilecek ortak işlevsel alanları ve düzenleyici dizileri vurgulamıştır. miRNA analizi, bu genlerin potansiyel transkripsiyon sonrası düzenlemelerini öne sürerek düzenlemelerine başka bir karmaşıklık katmanı eklemiştir.

Bu bulgular, asmadaki ısı şok faktörleri ve ısı şok proteini 90 hakkındaki mevcut bilgi birikimine önemli katkılarda bulunabilecektir, HSF ve HSP90 gen ailelerinin üzümler gelişim süreçlerindeki ve çeşitli çevresel streslere yanıtlarındaki önemini göstermektedir. Detaylı biyoinformatik analiz, üzümlerde termotoleransın genetik ve biyoteknolojik yaklaşımlar aracılığıyla artırmayı hedefleyen gelecekteki araştırmalar için bir temel oluşturabilecektir. Gelecekteki çalışmalarda, farklı stres koşulları altında gen ifadesi çalışmaları gibi daha fazla deneysel doğrulama yapılması önem arz etmektedir. Bu çalışmalar, asmadaki VvHSF ve VvHSP90 genlerinin işlevsel önemi hakkında daha değerli bilgiler sağlayacaktır. Bu tür deneyler, gen ekspresyon modellerinin ısı stresi, kuraklık, tuzluluk ve diğer abiyotik streslere yanıt olarak analiz edilmesini içerebilir. Sonuç olarak, bu bilgiler strese toleransı artırılmış asma çeşitlerinin geliştirilmesine katkıda bulunarak iklim değişikliği karşısında sürdürülebilir bağcılığa önemli katkılar sağlayabilecektir.

KAYNAKLAR

- [1] Xiuquan Shi *et al.*, “The complete reference genome for grapevine (*Vitis vinifera* L.) genetics and breeding,” *Hortic. Res.*, vol. 10, no. 5, Apr. 2023, doi: 10.1093/hr/uhad061.
- [2] “OIV_STATE_OF_THE_WORLD_VINE_AND_WINE_SECTOR_IN_2023.pdf.” Accessed: Jul. 09, 2024. [Online]. Available: https://www.oiv.int/sites/default/files/2024-04/OIV_STATE_OF_THE_WORLD_VINE_AND_WINE_SECTOR_IN_2023.pdf
- [3] X. Venios, Elias Korkas, E. Korkas, A. Nisiotou, and G. Banilas, “Grapevine Responses to Heat Stress and Global Warming.,” *Plants*, vol. 9, no. 12, p. 1754, 2020, doi: 10.3390/plants9121754.
- [4] M. Guo *et al.*, “The Plant Heat Stress Transcription Factors (HSFs): Structure, Regulation, and Function in Response to Abiotic Stresses,” *Front. Plant Sci.*, vol. 7, pp. 114–114, Feb. 2016, doi: 10.3389/fpls.2016.00114.
- [5] S. U. Haq *et al.*, “Heat Shock Proteins: Dynamic Biomolecules to Counter Plant Biotic and Abiotic Stresses.,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 20, no. 21, p. 5321, Oct. 2019, doi: 10.3390/ijms20215321.
- [6] L. Ambrosino, C. Colantuono, G. Diretto, A. Fiore, and M. L. Chiusano, “Bioinformatics resources for plant abiotic stress responses: State of the art and opportunities in the fast evolving-omics era,” *Plants*, vol. 9, no. 5, p. 591, May 2020, doi: 10.3390/plants9050591.
- [7] Huiying Mu, Bao-Shan Wang, and F. Yuan, “Bioinformatics in Plant Breeding and Research on Disease Resistance,” *Plants*, vol. 11, no. 22, pp. 3118–3118, Nov. 2022, doi: 10.3390/plants11223118.
- [8] F. Grassi, G. De Lorenzis, and G. De Lorenzis, “Back to the Origins: Background and Perspectives of Grapevine Domestication.,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 22, no. 9, p. 4518, Apr. 2021, doi: 10.3390/ijms22094518.
- [9] S. Bernardo, L.-T. Dinis, N. Machado, and J. Moutinho-Pereira, “Grapevine abiotic stress assessment and search for sustainable adaptation strategies in Mediterranean-like climates. A review,” *Agron. Sustain. Dev.*, vol. 38, no. 6, p. 66, Nov. 2018, doi: 10.1007/s13593-018-0544-0.
- [10] “oiv-state-of-the-world-vitivinicultural-sector-in-2020.pdf.” Accessed: Jul. 09, 2024. [Online]. Available: <https://www.oiv.int/public/medias/7909/oiv-state-of-the-world-vitivinicultural-sector-in-2020.pdf>
- [11] S. Candar *et al.*, “Viticulture Tradition in Turkey,” *Tekirdag Vitic. Res. Inst.*, vol. 1, no. 1, pp. 39–54, Jul. 2021, doi: 10.52001/vis.2021.5.
- [12] “Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK).” Accessed: Jul. 09, 2024. [Online]. Available: <https://www.tuik.gov.tr/>
- [13] L. Hannah *et al.*, “Climate change, wine, and conservation,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 110, no. 17, pp. 6907–6912, Apr. 2013, doi: 10.1073/pnas.1210127110.
- [14] X. Chen *et al.*, “Genome-Wide Identification and Expression Analysis of Hsf and Hsp Gene Families in Cucumber (*Cucumis Sativus* L.),” *Plant Growth Regul. Print*, vol. 95, no. 2, pp. 1–17, 2021, doi: 10.21203/rs.3.rs-189743/v1.
- [15] Xinna Liu, Haiyang Chen, Shenchang Li, and Lijun Wang, “Genome-Wide Identification of the Hsp70 Gene Family in Grape and Their Expression Profile during Abiotic Stress,” *Horticulturae*, vol. 8, no. 8, pp. 743–743, Aug. 2022, doi: 10.3390/horticulturae8080743.

- [16] A. Kumar and P. Kaushik, “Heat Stress and its Impact on Plant Function: An Update,” Aug. 2021, doi: 10.20944/preprints202108.0489.v1.
- [17] N. Driedonks, J. Xu, J. L. Peters, S. Park, Ivo Rieu, and I. Rieu, “Multi-Level Interactions Between Heat Shock Factors, Heat Shock Proteins, and the Redox System Regulate Acclimation to Heat,” *Front. Plant Sci.*, vol. 6, pp. 999–999, Nov. 2015, doi: 10.3389/fpls.2015.00999.
- [18] M. Lamaoui *et al.*, “Heat and Drought Stresses in Crops and Approaches for Their Mitigation,” *Front. Chem.*, vol. 6, pp. 26–26, Feb. 2018, doi: 10.3389/fchem.2018.00026.
- [19] B. Zhang, H.-L. Qiu, D.-H. Qu, Y. Ruan, and D.-H. Chen, “Phylogeny-dominant classification of J-proteins in *Arabidopsis thaliana* and *Brassica oleracea*,” *Genome*, vol. 61, no. 6, pp. 405–415, Apr. 2018, doi: 10.1139/gen-2017-0206.
- [20] G. V. Jones and F. Alves, “Impact of climate change on wine production: a global overview and regional assessment in the Douro Valley of Portugal,” *Int. J. Glob. Warm.*, vol. 4, p. 383, Oct. 2012, doi: 10.1504/ijgw.2012.049448.
- [21] E. Neethling, G. Barbeau, C. Bonnefoy, and H. Quénol, “Change in climate and berry composition for grapevine varieties cultivated in the Loire Valley,” *Clim. Res.*, vol. 53, no. 2, pp. 89–101, Jun. 2012, doi: 10.3354/cr01094.
- [22] C. van Leeuwen *et al.*, “An Update on the Impact of Climate Change in Viticulture and Potential Adaptations,” *Agronomy*, vol. 9, no. 9, p. 514, Sep. 2019, doi: 10.3390/agronomy9090514.
- [23] M. U. Hassan *et al.*, “Heat stress in cultivated plants: nature, impact, mechanisms, and mitigation strategies—a review,” *Plant Biosyst.*, vol. 155, no. 2, pp. 211–234, Mar. 2021, doi: 10.1080/11263504.2020.1727987.
- [24] A. Nishad and A. K. Nandi, “Recent advances in plant thermomemory,” *Plant Cell Rep.*, vol. 40, no. 1, pp. 19–27, 2020, doi: 10.1007/s00299-020-02604-1.
- [25] U. C. Jha, A. Bohra, N. P. Singh, Narendra Pratap Singh, and N. P. Singh, “Heat stress in crop plants: its nature, impacts and integrated breeding strategies to improve heat tolerance,” *Plant Breed.*, vol. 133, no. 6, pp. 679–701, Dec. 2014, doi: 10.1111/pbr.12217.
- [26] M. Hasanuzzaman *et al.*, “Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 14, no. 5, pp. 9643–9684, May 2013, doi: 10.3390/ijms14059643.
- [27] A. Asea, A. A. A. Asea, Alexzander A. A. Asea, P. Kaur, P. Kaur, and S. K. Calderwood, “Heat Shock Proteins and Plants,” *Heat Shock Proteins*, Jan. 2016, doi: 10.1007/978-3-319-46340-7.
- [28] M. Liu *et al.*, “Transcriptome analysis of grape leaves reveals insights into response to heat acclimation,” *Sci. Hortic.*, vol. 272, p. 109554, Oct. 2020, doi: 10.1016/j.scienta.2020.109554.
- [29] K.-D. Scharf, T. Berberich, Ingo Ebersberger, I. Ebersberger, Lutz Nover, and L. Nover, “The plant heat stress transcription factor (Hsf) family: structure, function and evolution,” *Biochim. Biophys. Acta*, vol. 1819, no. 2, pp. 104–119, Feb. 2012, doi: 10.1016/j.bbagr.2011.10.002.
- [30] N. András, A. Pettkó-Szandtner, and L. Szabados, “Diversity of plant heat shock factors: regulation, interactions, and functions,” *J. Exp. Bot.*, vol. 72, no. 5, pp. 1558–1575, 2020, doi: 10.1093/jxb/eraa576.

- [31] Sotirios Fragkostefanakis *et al.*, “Prospects of engineering thermotolerance in crops through modulation of heat stress transcription factor and heat shock protein networks.,” *Plant Cell Environ.*, vol. 38, no. 9, pp. 1881–1895, Sep. 2015, doi: 10.1111/pce.12396.
- [32] Yiying Liao *et al.*, “Deep evaluation of the evolutionary history of the Heat Shock Factor (HSF) gene family and its expansion pattern in seed plants,” *PeerJ*, vol. 10, pp. e13603–e13603, Aug. 2022, doi: 10.7717/peerj.13603.
- [33] Wenhao Hu *et al.*, “Genome-wide survey and expression profiling of heat shock proteins and heat shock factors revealed overlapped and stress specific response under abiotic stresses in rice.,” *Plant Sci.*, vol. 176, no. 4, pp. 583–590, Apr. 2009, doi: 10.1016/j.plantsci.2009.01.016.
- [34] William R. Swindell, W. R. Swindell, Marianne Huebner, M. Huebner, Andreas P.M. Weber, and A. P. M. Weber, “Transcriptional profiling of Arabidopsis heat shock proteins and transcription factors reveals extensive overlap between heat and non-heat stress response pathways,” *BMC Genomics*, vol. 8, no. 1, pp. 125–125, May 2007, doi: 10.1186/1471-2164-8-125.
- [35] Zening Jin *et al.*, “Hsf and Hsp gene families in Populus: genome-wide identification, organization and correlated expression during development and in stress responses.,” *BMC Genomics*, vol. 16, no. 1, pp. 181–181, Mar. 2015, doi: 10.1186/s12864-015-1398-3.
- [36] Hou Sung Jung *et al.*, “Subset of heat-shock transcription factors required for the early response of Arabidopsis to excess light,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 110, no. 35, pp. 14474–14479, Aug. 2013, doi: 10.1073/pnas.1311632110.
- [37] H. Liu and Y. Charng, “Acquired thermotolerance independent of heat shock factor A1 (HsfA1), the master regulator of the heat stress response.,” *Plant Signal. Behav.*, vol. 7, no. 5, pp. 547–550, Apr. 2012, doi: 10.4161/psb.19803.
- [38] Xing Bian *et al.*, “A class B heat shock factor selected for during soybean domestication contributes to salt tolerance by promoting flavonoid biosynthesis.,” *New Phytol.*, vol. 225, no. 1, pp. 268–283, Jan. 2020, doi: 10.1111/nph.16104.
- [39] R. Schmidt, J. H. M. Schippers, A. Welker, D. Mieulet, E. Guiderdoni, and B. Mueller-Roeber, “Transcription factor OsHsfC1b regulates salt tolerance and development in *Oryza sativa* ssp. *japonica*,” *AoB Plants*, vol. 2012, p. pls011, 2012, doi: 10.1093/aobpla/pls011.
- [40] B. Bourguine and A. Guihur, “Heat Shock Signaling in Land Plants: From Plasma Membrane Sensing to the Transcription of Small Heat Shock Proteins.,” *Front. Plant Sci.*, vol. 12, p. 710801, Aug. 2021, doi: 10.3389/fpls.2021.710801.
- [41] Feng Niu *et al.*, “Structures of heat shock factor trimers bound to DNA,” *iScience*, vol. 24, no. 9, p. 102951, Aug. 2021, doi: 10.1016/j.isci.2021.102951.
- [42] S. A. Zafar *et al.*, “Genome wide analysis of heat shock transcription factor (HSF) family in chickpea and its comparison with Arabidopsis,” *Plant Omics*, vol. 9, no. 2, pp. 136–141, Mar. 2016, doi: 10.21475/poj.160902.p7644x.
- [43] Y. C. Altunoglu *et al.*, “Identification of watermelon heat shock protein members and tissue-specific gene expression analysis under combined drought and heat stresses.,” *Turk. J. Biol.*, vol. 43, no. 4, pp. 404–419, Dec. 2019, doi: 10.3906/biy-1907-5.
- [44] Ashish Kumar *et al.*, “Genome-wide Identification and Characterization of Heat Shock Protein Family Reveals Role in Development and Stress Conditions in *Triticum aestivum* L.,” *Sci. Rep.*, vol. 10, no. 1, p. 7858, May 2020, doi: 10.1038/s41598-020-64746-2.

- [45] F. Tian *et al.*, “Recent Advances in the Roles of HSFs and HSPs in Heat Stress Response in Woody Plants.,” *Front. Plant Sci.*, vol. 12, p. 704905, Jul. 2021, doi: 10.3389/fpls.2021.704905.
- [46] F. Ritossa, “A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in drosophila,” *Cell. Mol. Life Sci.*, vol. 18, no. 12, pp. 571–573, Dec. 1962, doi: 10.1007/bf02172188.
- [47] Mohamed H. Al-Whaibi and M. H. Al-Whaibi, “Plant heat-shock proteins: A mini review,” *J. King Saud Univ. - Sci.*, vol. 23, no. 2, pp. 139–150, Apr. 2011, doi: 10.1016/j.jksus.2010.06.022.
- [48] P. Jacob, H. Hirt, and A. Bendahmane, “The heat-shock protein/chaperone network and multiple stress resistance,” *Plant Biotechnol. J.*, vol. 15, no. 4, pp. 405–414, Apr. 2017, doi: 10.1111/pbi.12659.
- [49] H. Jee, “Size dependent classification of heat shock proteins : a mini-review,” *J. Exerc. Rehabil.*, vol. 12, no. 4, pp. 255–259, Aug. 2016, doi: 10.12965/jer.1632642.321.
- [50] E. R. Waters and E. Vierling, “Plant small heat shock proteins - evolutionary and functional diversity,” *New Phytol.*, vol. 227, no. 1, pp. 24–37, Jul. 2020, doi: 10.1111/nph.16536.
- [51] Benjamin Dennis Eisenhardt and B. D. Eisenhardt, “Small heat shock proteins: recent developments.,” *Biomol. Concepts*, vol. 4, no. 6, pp. 583–595, Dec. 2013, doi: 10.1515/bmc-2013-0028.
- [52] A. Banerjee and A. Roychoudhury, “Small Heat Shock Proteins: Structural Assembly and Functional Responses Against Heat Stress in Plants,” pp. 367–376, Jan. 2018, doi: 10.1016/b978-0-12-812689-9.00019-4.
- [53] Martin Haslbeck, M. Haslbeck, and E. Vierling, “A first line of stress defense: small heat shock proteins and their function in protein homeostasis.,” *J. Mol. Biol.*, vol. 427, no. 7, pp. 1537–1548, Apr. 2015, doi: 10.1016/j.jmb.2015.02.002.
- [54] Eman Basha, E. Basha, H. A. O’Neill, Heather A. O’Neill, and E. Vierling, “Small heat shock proteins and α -crystallins: dynamic proteins with flexible functions.,” *Trends Biochem. Sci.*, vol. 37, no. 3, pp. 106–117, Mar. 2012, doi: 10.1016/j.tibs.2011.11.005.
- [55] G. M. S. Pinheiro, Carlos H.I. Ramos, and C. H. I. Ramos, “Initial characterization of newly identified mitochondrial and chloroplast small HSPs from sugarcane shows that these chaperones have different oligomerization states and substrate specificities,” *Plant Physiol. Biochem.*, vol. 129, pp. 285–294, Aug. 2018, doi: 10.1016/j.plaphy.2018.06.002.
- [56] H. Kaur, H. Kaur, B. P. Petla, and M. Majee, “Small Heat Shock Proteins: Roles in Development, Desiccation Tolerance and Seed Longevity,” pp. 3–18, Jan. 2016, doi: 10.1007/978-3-319-46340-7_1.
- [57] Serena Carra *et al.*, “Small heat shock proteins: multifaceted proteins with important implications for life,” *Cell Stress Chaperones*, vol. 24, no. 2, pp. 295–308, Feb. 2019, doi: 10.1007/s12192-019-00979-z.
- [58] L. Zhong *et al.*, “Chloroplast Small Heat Shock Protein HSP21 Interacts with Plastid Nucleoid Protein pTAC5 and Is Essential for Chloroplast Development in Arabidopsis under Heat Stress,” *Plant Cell*, vol. 25, no. 8, pp. 2925–2943, Aug. 2013, doi: 10.1105/tpc.113.111229.
- [59] J. Chen *et al.*, “Genome-Wide Identification, Classification and Expression Analysis of the HSP Gene Superfamily in Tea Plant (*Camellia sinensis*),” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 19, no. 9, p. 2633, Sep. 2018, doi: 10.3390/ijms19092633.

- [60] Wei Ma *et al.*, “Identification and characterization of the GhHSP20 gene family in *Gossypium hirsutum*,” *Sci. Rep.*, vol. 6, no. 1, pp. 32517–32517, Sep. 2016, doi: 10.1038/srep32517.
- [61] X.-R. Ji, Y.-H. Yu, P.-Y. Ni, G.-H. Zhang, and D.-L. Guo, “Genome-wide identification of small heat-shock protein (HSP20) gene family in grape and expression profile during berry development,” *BMC Plant Biol.*, vol. 19, no. 1, pp. 1–15, Oct. 2019, doi: 10.1186/s12870-019-2031-4.
- [62] Pablo Pulido, P. Pulido, Dario Leister, and D. Leister, “Novel DNAJ-related proteins in *Arabidopsis thaliana*,” *New Phytol.*, vol. 217, no. 2, pp. 480–490, Jan. 2018, doi: 10.1111/nph.14827.
- [63] J. Wang *et al.*, “Integration of Transcriptomics and Metabolomics for Pepper (*Capsicum annuum* L.) in Response to Heat Stress,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 20, no. 20, p. 5042, Oct. 2019, doi: 10.3390/ijms20205042.
- [64] X. G. Qiu *et al.*, “The diversity of the DnaJ/Hsp40 family, the crucial partners for Hsp70 chaperones,” *Cell. Mol. Life Sci.*, vol. 63, no. 22, pp. 2560–2570, Sep. 2006, doi: 10.1007/s00018-006-6192-6.
- [65] G. Wang, F. Kong, S. Zhang, X. Meng, Y. Wang, and Q.-W. Meng, “A tomato chloroplast-targeted DnaJ protein protects Rubisco activity under heat stress,” *J. Exp. Bot.*, vol. 66, no. 11, Jun. 2015, doi: 10.1093/jxb/erv102.
- [66] H. H. Kampinga and E. A. Craig, “The HSP70 chaperone machinery: J proteins as drivers of functional specificity,” *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, vol. 11, no. 8, pp. 579–592, Aug. 2010, doi: 10.1038/nrm2941.
- [67] C. Tamadaddi, Chandan Sahi, and C. Sahi, “J domain independent functions of J proteins,” *Cell Stress Chaperones*, vol. 21, no. 4, pp. 563–570, May 2016, doi: 10.1007/s12192-016-0697-1.
- [68] F. F. Fan, F. Liu, X. Yang, H. Wan, H. Wan, and Y. Kang, “Global analysis of expression profile of members of DnaJ gene families involved in capsaicinoids synthesis in pepper (*Capsicum annuum* L.),” *BMC Plant Biol.*, vol. 20, no. 1, pp. 1–11, Jul. 2020, doi: 10.1186/s12870-020-02476-3.
- [69] M. Nagaraju *et al.*, “DnaJs, the critical drivers of Hsp70s: genome-wide screening, characterization and expression of DnaJ family genes in *Sorghum bicolor*,” *Mol. Biol. Rep.*, vol. 47, no. 10, pp. 7379–7390, 2020, doi: 10.1007/s11033-020-05793-w.
- [70] Y. Luo *et al.*, “Genome-wide analysis of the rice J-protein family: identification, genomic organization, and expression profiles under multiple stresses,” *3 Biotech*, vol. 9, no. 10, pp. 358–358, Sep. 2019, doi: 10.1007/s13205-019-1880-8.
- [71] Kwan-Pok Li *et al.*, “GmDNJ1, a type-I heat shock protein 40 (HSP40), is responsible for both Growth and heat tolerance in soybean,” *Plant Direct*, vol. 5, no. 1, 2021, doi: 10.1002/pld3.298.
- [72] M. Nagaraju *et al.*, “Functional Exploration of Chaperonin (HSP60/10) Family Genes and their Abiotic Stress-induced Expression Patterns in *Sorghum bicolor*,” *Curr. Genomics*, vol. 22, no. 2, pp. 137–152, 2021, doi: 10.2174/1389202922666210324154336.
- [73] G. Mas *et al.*, “Structural investigation of a chaperonin in action reveals how nucleotide binding regulates the functional cycle,” *Sci. Adv.*, vol. 4, no. 9, Sep. 2018, doi: 10.1126/sciadv.aau4196.

- [74] Tomoya Okamoto *et al.*, “HSP60 possesses a GTPase activity and mediates protein folding with HSP10,” *Sci. Rep.*, vol. 7, no. 1, pp. 16931–16931, Dec. 2017, doi: 10.1038/s41598-017-17167-7.
- [75] J. A. Malik, R. Lone, and Rafiq Lone, “Heat shock proteins with an emphasis on HSP 60,” *Mol. Biol. Rep.*, vol. 48, no. 10, pp. 6959–6969, Sep. 2021, doi: 10.1007/s11033-021-06676-4.
- [76] Ratnesh Chandra Mishra, R. C. Mishra, and A. Grover, “ClpB/Hsp100 proteins and heat stress tolerance in plants,” *Crit. Rev. Biotechnol.*, vol. 36, no. 5, pp. 862–874, Sep. 2016, doi: 10.3109/07388551.2015.1051942.
- [77] M. P. Mayer, Bernd Bukau, and B. Bukau, “Hsp70 chaperones: cellular functions and molecular mechanism,” *Cell. Mol. Life Sci.*, vol. 62, no. 6, pp. 670–684, Mar. 2005, doi: 10.1007/s00018-004-4464-6.
- [78] S. Khan *et al.*, “Heat Shock Proteins: Classification, Functions and Expressions in Plants during Environmental Stresses,” *J. Bioresour. Manag.*, vol. 8, no. 2, pp. 85–97, May 2021, doi: 10.35691/jbm.1202.0183.
- [79] T. Tichá *et al.*, “Multifaceted roles of HEAT SHOCK PROTEIN 90 molecular chaperones in plant development,” *J. Exp. Bot.*, vol. 71, no. 14, pp. 3966–3985, Jul. 2020, doi: 10.1093/jxb/eraa177.
- [80] L. H. Pearl and C. Prodromou, “Structure and Mechanism of the Hsp90 Molecular Chaperone Machinery,” *Annu. Rev. Biochem.*, vol. 75, no. 1, pp. 271–294, Jun. 2006, doi: 10.1146/annurev.biochem.75.103004.142738.
- [81] Mikko Taipale, M. Taipale, Daniel F. Jarosz, D. F. Jarosz, Susan Lindquist, and S. Lindquist, “HSP90 at the hub of protein homeostasis: emerging mechanistic insights,” *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, vol. 11, no. 7, pp. 515–528, Jul. 2010, doi: 10.1038/nrm2918.
- [82] J. Li, Johannes Büchner, and J. Buchner, “Structure, Function and Regulation of the Hsp90 Machinery,” *Biomed. J.*, vol. 36, no. 3, pp. 106–117, May 2013, doi: 10.4103/2319-4170.113230.
- [83] Manu Agarwal, M. Agarwal, S. Katiyar-Agarwal, and A. Grover, “Plant Hsp100 proteins: structure, function and regulation,” *Plant Sci.*, vol. 163, no. 3, pp. 397–405, Sep. 2002, doi: 10.1016/s0168-9452(02)00209-1.
- [84] R. Kumar *et al.*, “Expression analysis of ClpB/Hsp100 gene in faba bean (*Vicia faba* L.) plants in response to heat stress,” *Saudi J. Biol. Sci.*, vol. 23, no. 2, pp. 243–247, Mar. 2016, doi: 10.1016/j.sjbs.2015.03.006.
- [85] H. R. Saibil, “Chaperone machines for protein folding, unfolding and disaggregation,” *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, vol. 14, no. 10, pp. 630–642, Oct. 2013, doi: 10.1038/nrm3658.
- [86] M. Zolkiewski, T. Zhang, Ting Zhang, Ting Zhang, and M. Nagy, “Aggregate reactivation mediated by the Hsp100 chaperones,” *Arch. Biochem. Biophys.*, vol. 520, no. 1, pp. 1–6, Apr. 2012, doi: 10.1016/j.abb.2012.01.012.
- [87] Klaus-Dieter Scharf *et al.*, “Three tomato genes code for heat stress transcription factors with a region of remarkable homology to the DNA-binding domain of the yeast HSF,” *EMBO J.*, vol. 9, no. 13, pp. 4495–4501, Dec. 1990, doi: 10.1002/j.1460-2075.1990.tb07900.x.
- [88] Chuang Wang *et al.*, “Identification and expression analysis of OsHsfs in rice,” *J. Zhejiang Univ.-Sci. B*, vol. 10, no. 4, pp. 291–300, Mar. 2009, doi: 10.1631/jzus.b0820190.

- [89] F. Giorno, Gea Guerriero, G. Guerriero, S. Baric, and C. Mariani, “Heat shock transcriptional factors in *Malus domestica*: identification, classification and expression analysis,” *BMC Genomics*, vol. 13, no. 1, pp. 639–639, Nov. 2012, doi: 10.1186/1471-2164-13-639.
- [90] L. Jiang, W. Hu, Y. Qian, Q. Ren, and J. Zhang, “Genome-wide identification, classification and expression analysis of the Hsf and Hsp70 gene families in maize,” *Gene*, vol. 770, p. 145348, 2020, doi: 10.1016/j.gene.2020.145348.
- [91] J. H. Lee, S. A. Kim, S. Y. Ahn, Hae Keun Yun, and H. K. Yun, “Heat shock transcriptional factor genes (VfHSFs) of *Vitis fl exuosa* respond differently to high temperature in grapevines,” *Hortic. Environ. Biotechnol.*, vol. 62, no. 1, pp. 87–97, 2020, doi: 10.1007/s13580-020-00296-w.
- [92] Xuedong Yang *et al.*, “Heat shock factors in tomatoes: genome-wide identification, phylogenetic analysis and expression profiling under development and heat stress,” *PeerJ*, vol. 4, May 2016, doi: 10.7717/peerj.1961.
- [93] Ying-Ren Lin *et al.*, “Genome-wide identification, classification and analysis of heat shock transcription factor family in maize,” *BMC Genomics*, vol. 12, no. 1, pp. 76–76, Jan. 2011, doi: 10.1186/1471-2164-12-76.
- [94] M. Zhou *et al.*, “Genome-wide identification, phylogenetic and expression analysis of the heat shock transcription factor family in bread wheat (*Triticum aestivum* L.),” *BMC Genomics*, vol. 20, no. 1, pp. 505–505, Jun. 2019, doi: 10.1186/s12864-019-5876-x.
- [95] M. Muthusamy, S. Uma, S. Backiyarani, M. S. Saraswathi, and A. Chandrasekar, “Transcriptomic Changes of Drought-Tolerant and Sensitive Banana Cultivars Exposed to Drought Stress,” *Front. Plant Sci.*, vol. 7, pp. 1609–1609, Nov. 2016, doi: 10.3389/fpls.2016.01609.
- [96] Y. Ceylan, Y. C. Altunoglu, and Erdoğan Horuz, “HSF and Hsp Gene Families in sunflower: a comprehensive genome-wide determination survey and expression patterns under abiotic stress conditions,” *Protoplasma*, 2023, doi: 10.1007/s00709-023-01862-6.
- [97] E. N. Yer, M. C. Baloglu, and S. Ayan, “Identification and expression profiling of all Hsp family member genes under salinity stress in different poplar clones,” *Gene*, vol. 678, pp. 324–336, Dec. 2018, doi: 10.1016/j.gene.2018.08.049.
- [98] Wen Shan Zai *et al.*, “Comprehensive identification and expression analysis of Hsp90s gene family in *Solanum lycopersicum*,” *Genet. Mol. Res.*, vol. 14, no. 3, pp. 7811–7820, Jul. 2015, doi: 10.4238/2015.july.14.7.
- [99] Yasemin Çelik Altunoğlu, Y. C. Altunoglu, and Yasemin Çelik Altunoğlu, “Isı Şoku Protein Ailesinden Hsp70 Genlerinin Okaliptüs Genomunda Saptanması ve Karakterizasyonu,” *Kastamonu Univ. J. For. Fac.*, vol. 16, no. 2, pp. 497–509, Nov. 2016, doi: 10.17475/kastorman.289759.
- [100] Zhao-Shi Xu *et al.*, “Heat shock protein 90 in plants: molecular mechanisms and roles in stress responses,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 13, no. 12, pp. 15706–15723, Nov. 2012, doi: 10.3390/ijms131215706.
- [101] Jing Xu *et al.*, “Overexpression of GmHsp90s, a heat shock protein 90 (Hsp90) gene family cloning from soybean, decrease damage of abiotic stresses in *Arabidopsis thaliana*,” *PLOS ONE*, vol. 8, no. 7, Jul. 2013, doi: 10.1371/journal.pone.0069810.

- [102] G. Banilas *et al.*, “Genome-wide analysis of the heat shock protein 90 gene family in grapevine (*Vitis vinifera* L.),” *Aust. J. Grape Wine Res.*, vol. 18, no. 1, pp. 29–38, Feb. 2012, doi: 10.1111/j.1755-0238.2011.00166.x.
- [103] Tianchi Chen *et al.*, “Genome-Wide Identification and Characterization of DnaJ Gene Family in Grape (*Vitis vinifera* L.),” *Horticulturae*, vol. 7, no. 12, pp. 589–589, Dec. 2021, doi: 10.3390/horticulturae7120589.
- [104] Roeland E. Voorrips and R. E. Voorrips, “MapChart: Software for the Graphical Presentation of Linkage Maps and QTLs,” *J. Hered.*, vol. 93, no. 1, pp. 77–78, Jan. 2002, doi: 10.1093/jhered/93.1.77.
- [105] Koichiro Tamura, Koichiro Tamura, Glen Stecher, Glen Stecher, Sudhir Kumar, and S. Kumar, “MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11,” *Mol. Biol. Evol.*, doi: 10.1093/molbev/msab120.
- [106] Chao Yu *et al.*, “Prediction of protein subcellular localization.,” *Proteins*, vol. 64, no. 3, pp. 643–651, Aug. 2006, doi: 10.1002/prot.21018.
- [107] Bo Hu *et al.*, “GSDS 2.0: an upgraded gene feature visualization server,” *Bioinformatics*, vol. 31, no. 8, pp. 1296–1297, Apr. 2015, doi: 10.1093/bioinformatics/btu817.
- [108] Timothy L. Bailey *et al.*, “MEME Suite: tools for motif discovery and searching,” *Nucleic Acids Res.*, vol. 37, pp. 202–208, Jul. 2009, doi: 10.1093/nar/gkp335.
- [109] Lawrence A. Kelley *et al.*, “The Phyre2 web portal for protein modeling, prediction and analysis,” *Nat. Protoc.*, vol. 10, no. 6, pp. 845–858, Jun. 2015, doi: 10.1038/nprot.2015.053.
- [110] Ana Kozomara, A. Kozomara, Sam Griffiths-Jones, and S. Griffiths-Jones, “miRBase: annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data.,” *Nucleic Acids Res.*, vol. 42, no. 1, pp. 68–73, Jan. 2014, doi: 10.1093/nar/gkt1181.
- [111] Xinbin Dai, X. Dai, Zhaohong Zhuang, Z. Zhuang, Patrick Xuechun Zhao, and P. X. Zhao, “psRNATarget: a plant small RNA target analysis server (2017 release),” *Nucleic Acids Res.*, vol. 46, Jul. 2018, doi: 10.1093/nar/gky316.
- [112] Paul Shannon *et al.*, “Cytoscape: A Software Environment for Integrated Models of Biomolecular Interaction Networks,” *Genome Res.*, vol. 13, no. 11, pp. 2498–2504, Nov. 2003, doi: 10.1101/gr.1239303.
- [113] Magali Lescot *et al.*, “PlantCARE, a database of plant cis-acting regulatory elements and a portal to tools for in silico analysis of promoter sequences,” *Nucleic Acids Res.*, vol. 30, no. 1, pp. 325–327, Jan. 2002, doi: 10.1093/nar/30.1.325.
- [114] Guotian Liu *et al.*, “Genome-wide Identification and Classification of HSF Family in Grape, and Their Transcriptional Analysis under Heat Acclimation and Heat Stress,” *Hortic. Plant J.*, vol. 4, no. 4, pp. 133–143, Jul. 2018, doi: 10.1016/j.hpj.2018.06.001.
- [115] Changwei Shen, C. Shen, Jingping Yuan, and J. Yuan, “Genome-wide characterization and expression analysis of the heat shock transcription factor family in pumpkin (*Cucurbita moschata*).,” *BMC Plant Biol.*, vol. 20, no. 1, pp. 1–20, Oct. 2020, doi: 10.1186/s12870-020-02683-y.
- [116] Xueli Wan *et al.*, “Genome-wide identification and classification of the Hsf and sHsp gene families in *Prunus mume*, and transcriptional analysis under heat stress.,” *PeerJ*, vol. 7, Jul. 2019, doi: 10.7717/peerj.7312.

- [117] Bin Tan *et al.*, “Genome-wide identification of HSF family in peach and functional analysis of PpHSF5 involvement in root and aerial organ development,” *PeerJ*, vol. 9, 2021, doi: 10.7717/peerj.10961.
- [118] Mengyao Li *et al.*, “Comprehensive analysis of HSF genes from celery (*Apium graveolens* L.) and functional characterization of AgHSFa6-1 in response to heat stress,” *Front. Plant Sci.*, 2023, doi: 10.3389/fpls.2023.1132307.
- [119] F. Zhang *et al.*, “Whence genes in pieces: reconstruction of the exon-intron gene structures of the last eukaryotic common ancestor and other ancestral eukaryotes,” *Wiley Interdiscip. Rev. - Rna*, vol. 4, no. 1, pp. 93–105, Jan. 2013, doi: 10.1002/wrna.1143.
- [120] Adrienne Ressayre *et al.*, “Introns structure patterns of variation in nucleotide composition in *Arabidopsis thaliana* and rice protein-coding genes,” *bioRxiv*, p. 010819, Oct. 2014, doi: 10.1101/010819.
- [121] Junior Altamiranda, Junior Altamiranda, José Aguilar, J. Aguilar, Chistian Delamarche, and C. Delamarche, “Comparison and fusion model in protein motifs,” *Lat. Am. Comput. Conf. Conf. Latinoam. En Inform.*, vol. 2, pp. 1–12, Nov. 2013, doi: 10.1109/lei.2013.6670618.
- [122] Md. Mahfuzur Rahaman, Nabila Shahnaz Khan, and Shaojie Zhang, “RNAMotifComp: a comprehensive method to analyze and identify structurally similar RNA motif families,” *Bioinform.*, vol. 39, no. Supplement_1, pp. i337–i346, Jun. 2023, doi: 10.1093/bioinformatics/btad223.
- [123] Shireen Al-Momani *et al.*, “Comparative Qualitative Phosphoproteomics Analysis Identifies Shared Phosphorylation Motifs and Associated Biological Processes in Flowering Plants,” *bioRxiv*, p. 233668, Dec. 2017, doi: 10.1101/233668.
- [124] S. Haider *et al.*, “In Silico Characterization and Expression Profiles of Heat Shock Transcription Factors (HSFs) in Maize (*Zea mays* L.),” *Agronomy*, vol. 11, no. 11, p. 2335, Nov. 2021, doi: 10.3390/agronomy11112335.
- [125] Q. Zhang *et al.*, “Heat shock transcription factor (HSF) gene family in common bean (*Phaseolus vulgaris*): genome-wide identification, phylogeny, evolutionary expansion and expression analyses at the sprout stage under abiotic stress,” *BMC Plant Biol.*, vol. 22, no. 1, pp. 33–33, Jan. 2022, doi: 10.1186/s12870-021-03417-4.
- [126] Prabhakaran Munusamy *et al.*, “De novo computational identification of stress-related sequence motifs and microRNA target sites in untranslated regions of a plant transcriptome,” *Sci. Rep.*, vol. 7, no. 1, pp. 43861–43861, Mar. 2017, doi: 10.1038/srep43861.
- [127] I. Abouelsaad and S. Renault, “Enhanced oxidative stress in the jasmonic acid-deficient tomato mutant *def-1* exposed to NaCl stress,” *J. Plant Physiol.*, vol. 226, pp. 136–144, Jul. 2018, doi: 10.1016/j.jplph.2018.04.009.
- [128] Y. Zheng, X. Wang, X. Cui, K. Wang, Y. Wang, and Y. He, “Phytohormones regulate the abiotic stress: An overview of physiological, biochemical, and molecular responses in horticultural crops,” *Front. Plant Sci.*, vol. 13, p. 1095363, Jan. 2023, doi: 10.3389/fpls.2022.1095363.
- [129] Sen Lin *et al.*, “Rice HEAT SHOCK PROTEIN60-3B maintains male fertility under high temperature by starch granule biogenesis,” *Plant Physiol.*, vol. 192, no. 3, pp. 2301–2317, Mar. 2023, doi: 10.1093/plphys/kiad136.
- [130] Jun Yan *et al.*, “Evolution, functional divergence and conserved exon-intron structure of bHLH/PAS gene family,” *Mol. Genet. Genomics*, vol. 289, no. 1, pp. 25–36, Feb. 2014, doi: 10.1007/s00438-013-0786-0.

- [131] Daniel C. Jeffares *et al.*, “Rapidly regulated genes are intron poor,” *Trends Genet.*, vol. 24, no. 8, pp. 375–378, Aug. 2008, doi: 10.1016/j.tig.2008.05.006.
- [132] Rupesh Deshmukh, R. Deshmukh, Humira Sonah, H. Sonah, Nagendra Singh, and N. K. Singh, “Intron gain, a dominant evolutionary process supporting high levels of gene expression in rice,” *J. Plant Biochem. Biotechnol.*, vol. 25, no. 2, pp. 142–146, Apr. 2016, doi: 10.1007/s13562-015-0319-5.
- [133] Jin Wang *et al.*, “Introns in the Naa50 Gene Act as Strong Enhancers of Tissue-Specific Expression in Arabidopsis,” *Soc. Sci. Res. Netw.*, Jan. 2022, doi: 10.2139/ssrn.4130140.
- [134] Xiaochuan Sun *et al.*, “Identification of novel and salt-responsive miRNAs to explore miRNA-mediated regulatory network of salt stress response in radish (*Raphanus sativus* L.),” *BMC Genomics*, vol. 16, no. 1, pp. 197–197, Mar. 2015, doi: 10.1186/s12864-015-1416-5.
- [135] Matthew W. Jones-Rhoades, M. W. Jones-Rhoades, David P. Bartel, D. P. Bartel, Bonnie Bartel, and B. Bartel, “MicroRNAs AND THEIR REGULATORY ROLES IN PLANTS,” *Annu. Rev. Plant Biol.*, vol. 57, no. 1, pp. 19–53, May 2006, doi: 10.1146/annurev.arplant.57.032905.105218.
- [136] Praveen Guleria, P. Guleria, Sudesh Kumar Yadav, and S. K. Yadav, “Identification of miR414 and expression analysis of conserved miRNAs from *Stevia rebaudiana*,” *Genomics Proteomics Bioinformatics*, vol. 9, no. 6, pp. 211–217, Dec. 2011, doi: 10.1016/s1672-0229(11)60024-7.
- [137] X. Liu, S. Huang, and H. Xie, “Advances in the regulation of plant development and stress response by miR167,” *Front. Biosci.-Landmark*, vol. 26, no. 9, Art. no. 9, Sep. 2021, doi: 10.52586/4974.
- [138] D. Ding, L. Zhang, H. Wang, Z. Liu, Z. Zhang, and Y. Zheng, “Differential expression of miRNAs in response to salt stress in maize roots,” *Ann. Bot.*, vol. 103, no. 1, pp. 29–38, Jan. 2009, doi: 10.1093/aob/mcn205.
- [139] Y. Wang *et al.*, “MicroRNA167-Directed Regulation of the Auxin Response Factors GmARF8a and GmARF8b Is Required for Soybean Nodulation and Lateral Root Development,” *Plant Physiol.*, vol. 168, no. 3, pp. 984–999, Jul. 2015, doi: 10.1104/pp.15.00265.
- [140] H. Liu *et al.*, “Four AUXIN RESPONSE FACTOR genes downregulated by microRNA167 are associated with growth and development in *Oryza sativa*,” *Funct. Plant Biol.*, vol. 39, no. 9, p. 736, 2012, doi: 10.1071/FP12106.
- [141] S. Parmar *et al.*, “Identification and expression analysis of miRNAs and elucidation of their role in salt tolerance in rice varieties susceptible and tolerant to salinity,” *PLoS ONE*, vol. 15, no. 4, p. e0230958, Apr. 2020, doi: 10.1371/journal.pone.0230958.
- [142] Alexandre P. Marand, Andrea L. Eveland, Kerstin Kaufmann, and Nathan M. Springer, “*cis*-Regulatory Elements in Plant Development, Adaptation, and Evolution,” *Annu. Rev. Plant Biol.*, vol. 74, no. 1, pp. 111–137, May 2023, doi: 10.1146/annurev-arplant-070122-030236.
- [143] Usman Ijaz *et al.*, “Plant Cis-regulatory elements: methods of identification and applications,” *Asian J. Agric. Biol.*, vol. 8, no. 2, pp. 207–222, Apr. 2020, doi: 10.35495/ajab.2019.08.352.

EK 1 *Vitis vinifera* HSF Protein Kataloğu

Gen Adı	NCBI Adı	<i>Vitis vinifera</i> genomundaki Fiziksel Pozisyonu				pI	Molecular ağırlığı (kDa)	Kararsızlık indeksi	Kararsılık durumu	Hücre Altı Lokalizasyonu
		Kromozom	Başlangıç Pozisyonu (bp)	Bitiş Pozisyonu (bp)	Protein uzunluğu (aa)					
VvHsf-1	WJZ80590.1	1	5,705,089	5,708,546	415	5.16	48.06	43.46	kararsız	Çekirdek
VvHsf-2	WJZ82274.1	2	3,553,233	3,554,379	305	5.09	33.87	63.44	kararsız	Çekirdek
VvHsf-3	WJZ82734.1	2	9,647,820	9,659,198	496	4.93	54.38	55.95	kararsız	Çekirdek
VvHsf-4	WJZ87159.1	5	5,937,498	5,939,023	352	5.03	40.07	45.69	kararsız	Çekirdek
VvHsf-5	WJZ89601.1	6	18,561,642	18,562,930	285	7	33.07	52.04	kararsız	Çekirdek
VvHsf-6	WJZ90081.1	7	916,686	918,512	361	5.36	40.91	60.49	kararsız	Çekirdek
VvHsf-7	WJZ92012.1	7	27,492,249	27,494,258	286	5.17	31.79	41.57	kararsız	Çekirdek
VvHsf-8	WJZ93672.1	8	19,065,274	19,067,813	531	4.93	58.81	53.39	kararsız	Çekirdek
VvHsf-9	WJZ94127.1	8	23,345,986	23,347,000	242	6.37	27.78	60.77	kararsız	Çekirdek
VvHsf-10	WJZ96376.1	10	6,060,806	6,062,429	200	9.19	22.99	48.87	kararsız	Çekirdek
VvHsf-11	WJZ96581.1	10	8,320,540	8,322,280	448	5.15	50.88	53.52	kararsız	Çekirdek
VvHsf-12	WJZ97972.1	11	3,207,198	3,208,272	329	5.58	37.32	66.49	kararsız	Çekirdek
VvHsf-13	WJZ99030.1	12	2,074,578	2,077,186	442	5.51	50.10	55.98	kararsız	Çekirdek
VvHsf-14	WKA06189.1	16	1,749,831	1,753,268	512	5.45	56.84	59.52	kararsız	Çekirdek
VvHsf-15	WKA07149.1	16	20,980,991	20,981,864	262	8.35	29.26	53.88	kararsız	Çekirdek
VvHsf-16	WKA09942.1	18	8,676,901	8,678,135	363	8.09	40.18	53.86	kararsız	Çekirdek

EK 2 *Vitis vinifera* HSP90 Protein Kataloğu

Gen Adı	NCBI Adı	Vitis vinifera genomundaki Fiziksel Pozisyonu				pI	Molecular ağırlığı (kDa)	Kararsızlık indeksi	Kararsılık durumu	Hücre Altı Lokalizasyonu
		Kromozom	Başlangıç Pozisyonu (bp)	Bitiş Pozisyonu (bp)	Protein uzunluğu (aa)					
VvHsp90-1	WJZ80607.1	1	5,948,566	5,957,360	1049	7.81	116.66	39.04	kararlı	Sitoplazmik, Mitokondriyal
VvHsp90-2	WJZ81351.1	1	20,567,976	20,578,648	792	4.92	90.47	46.39	kararsız	Sitoplazmik
VvHsp90-3	WJZ81702.1	1	25,885,560	25,890,835	1039	6.46	115.70	35.43	kararlı	Plazma Membranı
VvHsp90-4	WJZ85485.1	4	8,790,344	8,805,148	1012	5.08	113.52	50.17	kararsız	Çekirdek
VvHsp90-5	WJZ86212.1	4	21,674,910	21,685,120	1217	8.14	136.63	41.87	kararsız	Plazma Membranı
VvHsp90-6	WJZ86690.1	5	1,204,061	1,211,577	1129	5.66	125.57	48.03	kararsız	Sitoplazmik
VvHsp90-7	WJZ86854.1	5	2,851,708	2,854,891	369	6.17	41.74	49.87	kararsız	Sitoplazmik
VvHsp90-8	WJZ87265.1	5	7,319,812	7,322,957	764	7.87	84.83	37.55	kararlı	Plazma Membranı
VvHsp90-9	WJZ88549.1	6	1,943,990	1,951,549	673	9.15	76.09	43.32	kararsız	Çekirdek
VvHsp90-10	WJZ90399.1	7	3,842,358	3,846,797	636	6.46	71.06	38.67	kararlı	Plazma Membranı
VvHsp90-11	WJZ93801.1	8	20,250,044	20,273,832	721	8.01	80.37	36.8	kararlı	Mitokondriyal, Sitoplazmik
VvHsp90-12	WJZ96007.1	10	2,356,076	2,359,636	699	4.99	80.01	37.61	kararlı	Sitoplazmik
VvHsp90-13	WJZ96681.1	10	9,750,398	9,760,505	1124	5.9	125.07	45.39	kararsız	Sitoplazmik
VvHsp90-14	WJZ99697.1	12	9,091,121	9,098,864	1272	7.38	141.68	40.64	kararsız	Çekirdek, Plazma Membranı, Mitokondriyal
VvHsp90-15	WJZ99735.1	12	9,439,545	9,444,876	1118	5.67	124.05	48.63	kararsız	Sitoplazmik
VvHsp90-16	WKA02365.1	13	27,712,567	27,719,365	1489	6.89	167.38	41.81	kararsız	Çekirdek
VvHsp90-17	WKA02569.1	14	187,419	192,668	1124	6.01	124.35	42.95	kararsız	Sitoplazmik
VvHsp90-18	WKA03259.1	14	8,882,402	8,886,045	760	8.05	84.93	40.15	kararsız	Plazma Membranı
VvHsp90-19	WKA07299.1	16	22,992,387	22,995,188	704	4.96	80.87	38.05	kararlı	Sitoplazmik
VvHsp90-20	WKA10323.1	18	12,437,553	12,443,228	818	4.87	93.22	34.04	kararlı	ER
VvHsp90-21	WKA12686.1	19	9,219,578	9,222,817	704	5	80.85	38.06	kararlı	Sitoplazmik
VvHsp90-22	WKA13051.1	19	19,690,778	19,715,979	742	6.44	82.96	38.76	kararlı	Plazma Membranı

EK 3. *Vitis vinifera* HSF genlerinin Cis-etkili unsurları

Gen Adı	Unsurlar	Açıklama	Gen Adı	Unsurlar	Açıklama
VvHsf1	G-box	ışık duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsf16	TATA-box	transkripsiyon başlangıcının -30 civarındaki çekirdek promotör elementi
VvHsf1	ABRE	absisik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsf16	TGACG-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsf1	CGTCA-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsf16	TGA-element	oksin duyarlı eleman
VvHsf1	TC-rich repeats	savunma ve stres duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsf2	CGTCA-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsf1	TGA-element	oksin duyarlı eleman	VvHsf2	G-box	ışık duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsf1	TGACG-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsf2	ABRE	absisik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsf1	TATA-box	transkripsiyon başlangıcının -30 civarındaki çekirdek promotör elementi	VvHsf2	TCA-element	salisilik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsf10	ABRE	absisik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsf2	LTR	Düşük sıcaklık duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsf10	TATC-box	gibberellin duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsf2	TGACG-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsf10	GARE-motif	gibberellin duyarlı element	VvHsf2	TATA-box	transkripsiyon başlangıcının -30 civarındaki çekirdek promotör elementi
VvHsf10	TATA-box	transkripsiyon başlangıcının -30 civarındaki çekirdek promotör elementi	VvHsf2	TGA-element	oksin duyarlı eleman
VvHsf11	P-box	gibberellin duyarlı element	VvHsf3	P-box	gibberellin duyarlı element
VvHsf11	TGA-element	oksin duyarlı eleman	VvHsf3	GARE-motif	gibberellin duyarlı element
VvHsf11	TGACG-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsf3	G-Box	ışık duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsf11	TATA-box	transkripsiyon başlangıcının -30 civarındaki çekirdek promotör elementi	VvHsf3	TATA-box	transkripsiyon başlangıcının -30 civarındaki çekirdek promotör elementi
VvHsf11	LTR	Düşük sıcaklık duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsf3	ABRE	absisik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element

EK 3'ün devamı,

VvHsf11	TCA-element	salisilik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsf3	LTR	Düşük sıcaklık duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsf11	CGTCA-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsf4	GARE-motif	gibberellin duyarlı element
VvHsf12	TCA-element	salisilik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsf4	TGA-element	oksin duyarlı eleman
VvHsf12	CGTCA-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsf4	TATA-box	transkripsiyon başlangıcının -30 civarındaki çekirdek promotör elementi
VvHsf12	TGA-element	oksin duyarlı eleman	VvHsf4	TGACG-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsf12	TGACG-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsf4	ABRE	absisik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsf12	TATA-box	transkripsiyon başlangıcının -30 civarındaki çekirdek promotör elementi	VvHsf4	G-box	ışık duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsf13	GARE-motif	gibberellin duyarlı element	VvHsf4	CGTCA-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsf13	P-box	gibberellin duyarlı element	VvHsf5	TCA-element	salisilik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsf13	TATC-box	gibberellin duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsf5	LTR	Düşük sıcaklık duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsf13	TATA-box	transkripsiyon başlangıcının -30 civarındaki çekirdek promotör elementi	VvHsf5	P-box	gibberellin duyarlı element
VvHsf13	TGACG-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsf5	TATA-box	transkripsiyon başlangıcının -30 civarındaki çekirdek promotör elementi
VvHsf13	LTR	Düşük sıcaklık duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsf5	TC-rich repeats	savunma ve stres duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsf13	TCA-element	salisilik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsf6	TATA-box	transkripsiyon başlangıcının -30 civarındaki çekirdek promotör elementi
VvHsf13	ABRE	absisik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsf6	G-Box	ışık duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsf13	AuxRR-core	oksin duyarlılığında rol oynayan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsf6	TGACG-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur

EK 3'ün devamı,

VvHsf14	TATC-box	gibberellin duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsf6	TC-rich repeats	savunma ve stres duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsf14	P-box	gibberellin duyarlı element	VvHsf6	CGTCA-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsf14	TATA-box	transkripsiyon başlangıcının -30 civarındaki çekirdek promotör elementi	VvHsf6	TCA-element	salisilik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsf15	TATA-box	transkripsiyon başlangıcının -30 civarındaki çekirdek promotör elementi	VvHsf6	ABRE	absisik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsf15	G-Box	ışık duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsf7	TGACG-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsf15	TGACG-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsf7	G-Box	ışık duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsf15	TGA-element	oksin duyarlı eleman	VvHsf7	TATA-box	transkripsiyon başlangıcının -30 civarındaki çekirdek promotör elementi
VvHsf15	CGTCA-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsf7	TGA-element	oksin duyarlı eleman
VvHsf15	TC-rich repeats	savunma ve stres duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsf7	GARE-motif	gibberellin duyarlı element
VvHsf15	TCA-element	salisilik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsf7	CGTCA-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsf15	LTR	Düşük sıcaklık duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsf7	ABRE	absisik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsf15	ABRE	absisik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsf7	LTR	Düşük sıcaklık duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsf16	CGTCA-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsf8	TATA-box	transkripsiyon başlangıcının -30 civarındaki çekirdek promotör elementi
VvHsf16	TCA-element	salisilik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsf8	TGACG-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsf16	LTR	Düşük sıcaklık duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsf8	TATC-box	gibberellin duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsf8	P-box	gibberellin duyarlı element	VvHsf9	ACE	ışık duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element

EK 3'ün devamı,

VvHsf8	TC-rich repeats	savunma ve stres duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsf9	TGACG-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsf8	CGTCA-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsf9	TCA-element	salisilik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsf8	TCA-element	salisilik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsf9	G-box	ışık duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsf9	TATC-box	gibberellin duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsf9	AuxRR-core	oksin duyarlılığında rol oynayan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsf9	TGA-element	oksin duyarlı eleman	VvHsf9	ABRE	absisik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsf9	TATA-box	transkripsiyon başlangıcının -30 civarındaki çekirdek promotör elementi	VvHsf9	CGTCA-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur

EK 4. *Vitis vinifera* HSP90 genlerinin Cis-etkili unsurları

Gen Adı	Unsur	Açıklama	Gen Adı	Unsur	Açıklama
VvHsp90-1	G-Box	ışık duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsp90-17	TCA-element	salisilik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsp90-1	TGACG-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsp90-17	CGTCA-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsp90-1	P-box	gibberellin duyarlı element	VvHsp90-17	TGA-element	oksin duyarlı eleman
VvHsp90-1	ABRE	absisik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsp90-18	GARE-motif	gibberellin duyarlı element
VvHsp90-1	TCA-element	salisilik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsp90-18	P-box	gibberellin duyarlı element
VvHsp90-1	TC-rich repeats	savunma ve stres duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsp90-18	ABRE	absisik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsp90-1	TATC-box	gibberellin duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsp90-18	G-Box	ışık duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsp90-1	GARE-motif	gibberellin duyarlı element	VvHsp90-18	TCA-element	salisilik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsp90-1	CGTCA-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsp90-18	LTR	Düşük sıcaklık duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsp90-10	AuxRR-core	oksin duyarlılığında rol oynayan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsp90-19	TGACG-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsp90-10	ACE	ışık duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsp90-19	CGTCA-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsp90-10	G-Box	ışık duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsp90-19	LTR	Düşük sıcaklık duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsp90-10	P-box	gibberellin duyarlı element	VvHsp90-2	GARE-motif	gibberellin duyarlı element
VvHsp90-10	ABRE	absisik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsp90-2	P-box	gibberellin duyarlı element
VvHsp90-10	TGACG-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsp90-2	G-box	ışık duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsp90-10	CGTCA-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsp90-2	TCA-element	salisilik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element

EK 4'ün devamı,

VvHsp90-10	LTR	Düşük sıcaklık duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsp90-20	G-Box	ışık duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsp90-10	SARE	salisilik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsp90-20	TCA-element	salisilik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsp90-10	TCA-element	salisilik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsp90-20	TGACG-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsp90-10	GARE-motif	gibberellin duyarlı element	VvHsp90-20	GARE-motif	gibberellin duyarlı element
VvHsp90-11	CGTCA-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsp90-20	ABRE	absisik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsp90-11	WUN-motif	yaraya duyarlı eleman	VvHsp90-20	CGTCA-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsp90-11	TATC-box	gibberellin duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsp90-21	TGACG-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsp90-11	TC-rich repeats	savunma ve stres duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsp90-21	G-box	ışık duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsp90-11	GARE-motif	gibberellin duyarlı element	VvHsp90-21	P-box	gibberellin duyarlı element
VvHsp90-11	TGACG-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsp90-21	ABRE	absisik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsp90-11	G-box	ışık duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsp90-21	LTR	Düşük sıcaklık duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsp90-12	G-box	ışık duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsp90-21	WUN-motif	yaraya duyarlı eleman
VvHsp90-12	GARE-motif	gibberellin duyarlı element	VvHsp90-21	CGTCA-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsp90-12	TGACG-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsp90-22	TC-rich repeats	savunma ve stres duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsp90-12	CGTCA-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsp90-22	ABRE	absisik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsp90-13	CGTCA-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsp90-22	G-box	ışık duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsp90-13	G-box	ışık duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsp90-22	TGACG-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsp90-13	GARE-motif	gibberellin duyarlı element	VvHsp90-22	GARE-motif	gibberellin duyarlı element
VvHsp90-13	TATC-box	gibberellin duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsp90-22	CGTCA-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur

EK 4'ün devamı,

VvHsp90-13	TCA-element	salisilik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsp90-22	LTR	Düşük sıcaklık duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsp90-13	AuxRR-core	oksin duyarlılığında rol oynayan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsp90-3	CGTCA-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsp90-13	P-box	gibberellin duyarlı element	VvHsp90-3	G-box	ışık duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsp90-13	ABRE	absisik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsp90-3	TATC-box	gibberellin duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsp90-13	TGACG-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsp90-3	AuxRR-core	oksin duyarlılığında rol oynayan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsp90-14	TGACG-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsp90-3	TGACG-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsp90-14	P-box	gibberellin duyarlı element	VvHsp90-3	ABRE	absisik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsp90-14	ABRE	absisik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsp90-3	P-box	gibberellin duyarlı element
VvHsp90-14	LTR	Düşük sıcaklık duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsp90-4	TGACG-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsp90-14	CGTCA-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsp90-4	GARE-motif	gibberellin duyarlı element
VvHsp90-14	TGA-element	oksin duyarlı eleman	VvHsp90-4	P-box	gibberellin duyarlı element
VvHsp90-14	GARE-motif	gibberellin duyarlı element	VvHsp90-4	G-box	ışık duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsp90-14	G-box	ışık duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsp90-4	ABRE	absisik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsp90-14	TCA-element	salisilik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsp90-4	CGTCA-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsp90-14	TATC-box	gibberellin duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsp90-4	TGA-element	oksin duyarlı eleman
VvHsp90-15	G-box	ışık duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsp90-5	LTR	Düşük sıcaklık duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsp90-15	GARE-motif	gibberellin duyarlı element	VvHsp90-5	WUN-motif	yaraya duyarlı eleman
VvHsp90-15	TC-rich repeats	savunma ve stres duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsp90-5	GARE-motif	gibberellin duyarlı element
VvHsp90-15	TCA-element	salisilik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsp90-5	G-box	ışık duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur

EK 4'ün devamı,

VvHsp90-15	LTR	Düşük sıcaklık duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsp90-5	ABRE	absisik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsp90-15	CGTCA-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsp90-5	TCA-element	salisilik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsp90-15	ABRE	absisik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsp90-5	TC-rich repeats	savunma ve stres duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsp90-15	P-box	gibberellin duyarlı element	VvHsp90-6	ACE	ışık duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsp90-15	TGACG-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsp90-6	TGACG-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsp90-15	AuxRR-core	oksin duyarlılığında rol oynayan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsp90-6	P-box	gibberellin duyarlı element
VvHsp90-16	TGACG-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsp90-6	ABRE	absisik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsp90-16	ABRE	absisik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsp90-6	LTR	Düşük sıcaklık duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsp90-16	TCA-element	salisilik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsp90-6	TGA-element	oksin duyarlı eleman
VvHsp90-16	TC-rich repeats	savunma ve stres duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsp90-6	CGTCA-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsp90-16	GARE-motif	gibberellin duyarlı element	VvHsp90-6	GARE-motif	gibberellin duyarlı element
VvHsp90-16	G-box	ışık duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsp90-6	G-box	ışık duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsp90-16	TGA-element	oksin duyarlı eleman	VvHsp90-6	TC-rich repeats	savunma ve stres duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsp90-16	CGTCA-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsp90-7	CGTCA-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsp90-16	ACA-motif	gapA'nın ışık duyarlılığı ile ilgili kısmı (gapA-CMA1)	VvHsp90-7	ABRE	absisik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsp90-16	LTR	Düşük sıcaklık duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsp90-7	G-box	ışık duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsp90-17	ABRE	absisik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsp90-7	P-box	gibberellin duyarlı element
VvHsp90-17	G-box	ışık duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsp90-7	TGACG-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsp90-17	GARE-motif	gibberellin duyarlı element	VvHsp90-8	GARE-motif	gibberellin duyarlı element

EK 4'ün devamı,

VvHsp90-17	TGACG-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsp90-8	TCA-element	salisilik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsp90-8	CGTCA-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsp90-8	LTR	Düşük sıcaklık duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsp90-8	TGACG-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsp90-9	TC-rich repeats	savunma ve stres duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsp90-8	ABRE	absisik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsp90-9	GARE-motif	gibberellin duyarlı element
VvHsp90-8	P-box	gibberellin duyarlı element	VvHsp90-9	TGACG-motif	MeJA duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur
VvHsp90-9	G-Box	ışık duyarlılığına dahil olan cis-etkili düzenleyici unsur	VvHsp90-9	ABRE	absisik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element
VvHsp90-9	TATC-box	gibberellin duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element	VvHsp90-9	TGA-element	oksin duyarlı eleman