

**EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**(YÜKSEK LİSANS TEZİ)**

**HNF1A DNA TRANSKRİPSİYON FAKTÖR GENİNİN MODY3  
HASTALARINDA ARAŞTIRILMASI**

**Azar SHIRINOV**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Afig BERDELİ**

**Biyoteknoloji Anabilim Dalı**

**Sunuş Tarihi:12.10.2015**

**Bornova-İZMİR**

**2015**

**ÖZET****HNF1A DNA TRANSKRİPSİYON FAKTÖR GENİNİN MODY3  
HASTALARINDA ARAŞTIRILMASI, GENOTİP FENOTİP İLİŞKİSİ**

SHIRINOV, AZAR

Yüksek Lisans Tezi, Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Afig BERDELİ

Ekim, 2015

MODY tip 3 insülininden bağımsız monogenik diyabet ailesinin bir formudur. HNF1A DNA transkripsiyon faktör geni, HNF-1 $\alpha$  transkripsiyon faktörü kodlar ve bu genin mutasyonu MODY3 hastalığına neden olduğu görülmektedir. Bu çalışmada MODY tip 3 sendromuna neden olan, HNF1A geninde oluşan mutasyonlar araştırılmıştır.

Ön tanısı konulmuş 150 (64 kız ve 86 erkek) MODY tip 3 hastası çalışmaya katılmıştır. HNF1A geni aminoasit kodlayan bölgelerinde, bu bölgelere yakın intron bölgelerinde ve 3' UTR bölgelerinde nükleotit dizilimi yolu ile mutasyon taranması yapılmıştır.

Sonuçlara göre, HNF1A geni ekson bölgelerinde üç yeni Gln28His, Pro290Arg, Arg272Gly mutasyon ve dört yeni olmayan Ile27Leu, Ser487Asn, Gly574Ser mutasyon tespit edilmiştir. Ayrıca, intron bölgelerinde üç yeni IVS7+8G>A, IVS8+29T>C , IVS8 +75G>A ve 3'UTR bölgesinde üç yeni 3'UTR+438G>A, 3'UTR+197G>T 3'UTR+603G>A varyasyon belirlenmiştir.

**Anahtar Sözcükler:** HNF1A geni, Transkripsiyon Faktörler, MODY sendromu, Diyabet, PCR, DNA, DNA dizi analizi, Mutasyon, Varyasyon

## ABSTRACT

### INVESTIGATION HNF1A DNA TRANSCRIPTION FACTOR GENE AT MODY3 PATIENTS, GENOTYPE FENOTYPE RELATIONSHIP

SHIRINOV, AZAR

Msc in Biotechnology Department

Supervisor: Prof. Dr. Afig BERDELI

October,2015

MODY type 3 is characterized by youth-onset diabetes that is inherited in an autosomal dominant (monogenic) pattern. HNF1A is DNA transcription factor gene coding HNF-1 $\alpha$  transcription factor that mutation at this gene caused MODY type 3 syndrome. In the present study we designed study to investigate mutations of gene HNF1A.

A total of 150 (64 female ve 86 male) patients with prediagnosed MODY type were enrolled. Screening of mutation in the coding, promoter, 3'UTR regions of the HNF1A genes was performed by sequencing.

Our results demonstrated three new Gln28His, Pro290Arg, Arg272Gly and four already screened Ile27Leu, Ser487Asn, Gly574Ser mutations in exon regions of the HNF1A was screened. However, at intron regions three new IVS7+8G>A, IVS8+29T>C, IVS8+75G>A and at 3'UTR region three new 3'UTR+438G>A, 3'UTR+197G>T 3'UTR+603G>A variations was screened.

**Keywords:** HNF1A gene, Transcription Factors, MODY syndrome, , Diabetes, PCR, DNA, DNA sequencing, Mutation, Variation.

**TEŞEKKÜR**

Bu çalışmanın her aşamasında emeği geçen çok değerli tez danışmanıma, sayın Prof. Dr. Afif BERDELİ'ye katkılarından ve emeklerinde dolayı teşekkür ederim. Tezimin genetik verilerinin elde edilmesi için yardımcı olan Ege Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Moleküler Tıp laboratuvarı çalışanları biyolog arkadaşlardan Demet Tıgılı'ya, Merve Atan'a ve diğer çalışanlara teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

|                                                                       |       |
|-----------------------------------------------------------------------|-------|
| ÖZET.....                                                             | vii   |
| ABSTRACT.....                                                         | ix    |
| TEŞEKKÜR.....                                                         | xi    |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....                                                  | xvi   |
| ÇİZELGELER DİZİNİ.....                                                | xviii |
| KISALTMALAR DİZİNİ.....                                               | xix   |
| 1. GİRİŞ.....                                                         | 1     |
| 1.1 MODY Sendromunun Tarihçesi.....                                   | 1     |
| 1.2 MODY – Tip2 Diyabet Kıyaslanması.....                             | 3     |
| 2. MODY OLUŞUMUNUN MOLEKÜLER MEKANİZMASI.....                         | 5     |
| 2.1 Beta ( $\beta$ )- Hücre Fonksiyonu.....                           | 8     |
| 2.2 Beta ( $\beta$ )- Hücrelerinde İnsülin Regülasyonu.....           | 10    |
| 3. MODY GENETİĞİ.....                                                 | 9     |
| 3.1 HNF1A Transkripsiyon Faktörü Geni ve Proteini.....                | 9     |
| 3.2 HNF1A Transkripsiyon Faktörünün Moleküler Mekanizması.....        | 16    |
| 3.3 DNA Analizi.....                                                  | 19    |
| 3.3.1 Denatürasyon ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR).....          | 19    |
| 3.3.2 DNA Analizi (Sekanslama).....                                   | 19    |
| 4. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....                                            | 22    |
| 4.1 Çalışma Grubu.....                                                | 22    |
| 5. MOLEKÜLER YÖNTEMLER .....                                          | 23    |
| 5.1 Kan örneklerinin toplanması.....                                  | 23    |
| 5.2.1 Genomik DNA izolasyon.....                                      | 23    |
| 5.2.2 DNA'nın agaroz jel elektroforez yöntemiyle kalite kontrolü..... | 25    |
| 5.2.3 Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR).....                          | 25    |
| 5.2.4 DNA Dizi Analizi.....                                           | 26    |

## İÇİNDEKİLER (devam)

|                                                 | <u>Sayfa</u> |
|-------------------------------------------------|--------------|
| 6. SONUÇLAR.....                                | 29           |
| 6.1. HNF1A Geninde Saptanan Polimorfizmler..... | 36           |
| 6.1.1 1.Ekson Leu17Leu Polimorfizmi.....        | 36           |
| 6.1.2 1. Ekson Ile27Leu Polimorfizmi.....       | 36           |
| 6.1.3 1.Ekson Gln28His Polimorfizmi.....        | 37           |
| 6.1.4 3.Ekson His179His Polimorfizmi.....       | 37           |
| 6.1.5 3.Ekson Thr231Thr Polimorfizmi.....       | 37           |
| 6.1.6 4.Ekson Gly288Gly Polimorfizmi.....       | 37           |
| 6.1.7 4.Ekson Pro290Arg Polimorfizmi.....       | 37           |
| 6.1.8 4.Ekson Arg272Gly Polimorfizmi.....       | 38           |
| 6.1.9 7.Ekson Leu459Leu Polimorfizmi.....       | 38           |
| 6.1.10 7.Ekson Ser487Asn Polimorfizmi.....      | 38           |
| 6.1.11 7.Ekson IVS7+8G>A Polimorfizmi.....      | 39           |
| 6.1.12 8.Ekson IVS8+29T>C Polimorfizmi.....     | 39           |
| 6.1.13 8.Ekson Thr515Thr Polimorfizmi.....      | 39           |
| 6.1.14 8.Ekson IVS8 +75G>A Polimorfizmi.....    | 39           |
| 6.1.15 9.Ekson Gly574Ser Polimorfizmi.....      | 39           |
| 6.1.16 3'UTR+438G>A Polimorfizmi.....           | 39           |
| 6.1.17 3'UTR+197G>T Polimorfizmi.....           | 40           |
| 6.1.18 3'UTR+603G>A Polimorfizmi.....           | 40           |
| 7. TARTIŞMA.....                                | 41           |
| 8. ÖNERİLER.....                                | 44           |
| 9. KAYNAKLAR.....                               | 45           |
| ÖZGEÇMİŞ.....                                   | 50           |

## İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

EKLER.....

## ŞEKİLLER DİZİNİ

| <u>Sekil</u>                                                                               | <u>Sayfa</u> |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| 2.1 Pankreasta bulunan <i>Langerhans</i> adacığının yapısı.....                            | 6            |
| 2.2 İnsülin geni DNA regülatör bölgesi modeli.....                                         | 8            |
| 3.1 HNF1A geni gösterimi.....                                                              | 9            |
| 3.2. HNF1A geni amino asit zinciri.....                                                    | 10           |
| 3.3. DNA bağlanma Bölgesi (homeoalan).....                                                 | 11           |
| 3.4 DNA heliks oluşturan bölge.....                                                        | 13           |
| 3.5 HNF1A protein serin ve treonin içeren bölgesi.....                                     | 14           |
| 3.6. HNF-1 $\alpha$ transkripsiyon faktörünün üç boyutlu yapısı.....                       | 15           |
| 3.7. HNF1A geni 16 farklı alternatif “splicing” oluşan ürünler.....                        | 16           |
| 3.8. HNF1a Genini regüle eden transkripsiyon faktörleri ve bağlanma bölgeleri.....         | 18           |
| 6.1 1.Eksonun DNA sekans analizi elektroforegramı.....                                     | 30           |
| 6.2 2.Eksonun DNA sekans analizi elektroforegramı.....                                     | 30           |
| 6.3 3.Eksonun DNA sekans analizi elektroforegramı.....                                     | 31           |
| 6.4 4. Eksonun DNA sekans analizi elektroforegramı.....                                    | 31           |
| 6.5 5. Ve 6. Eksonların DNA sekans analizi elektroforegramı.....                           | 32           |
| 6.6 7. Eksonun DNA sekans analizi elektroforegramı.....                                    | 32           |
| 6.7 8.ve 9. Eksonların DNA sekans analizi elektroforegramı.....                            | 33           |
| 6.8 10.Eksonun DNA sekans analizi elektroforegramı.....                                    | 33           |
| 6.9 3’UTR bölgesi DNA sekans analizi elektroforegramı.....                                 | 34           |
| 6.10 Ile27Leu heterozigot polimorfizmi (ATC>CTC) DNA sekans analizi elektroforegramı.....  | 34           |
| 6.11 Ser487Asn heterozigot polimorfizmi (AGC>AAC) DNA sekans analizi elektroforegramı..... | 35           |

**ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)**ŞekilSayfa

|                                                                                                                                        |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 6.12 Gly288Gly heterozigot (GGG>GGC) ve c.872 insC (291 ProFsX316) heterozigot polimorfizleri DNA sekans analizi elektroforegramı..... | 35 |
| 6.13 Saptanan nükleotid değişimlerinin DNA domeynlerine göre dağılımı.....                                                             | 36 |

## ÇİZELGELER DİZİNİ

| <u>Çizelge</u>                                                                                                                                                | <u>Sayfa</u> |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| 1.1. MODY ve tip 2 diyabetin ayırıcı özellikleri.....                                                                                                         | 3            |
| 2.1 Moleküler beta ( $\beta$ )- hücre bozuklukları.....                                                                                                       | 7            |
| 3.1 ABI Prism Big Dye <sup>TM</sup> terminatör reaksiyon kitinde ddNTP' lerin işaretlendikleri floresan boya isimleri ile bunlara karşılık gelen renkler..... | 21           |
| 5.1 HNF1A geni on ekzonu için PCR amplifikasyonunda kullanılan primer listesi.....                                                                            | 25           |
| 5.2 HNF1A nukleotid dizisi.....                                                                                                                               | 28           |
| 6.1. Nükleotid değişimlerinin eksonlara göre dağılımı .....                                                                                                   | 29           |

**KISALTMALAR DİZİNİ**

| <u>Kısaltmalar</u> | <u>Açıklama</u>                      |
|--------------------|--------------------------------------|
| MODY               | Maturity Onset Diabetes Young        |
| MODY3              | Maturity Onset Diabetes Young Type 3 |
| HNF1A              | Hepatosit Nuclear Factor Bir A Geni  |
| DM                 | Diabetes Mellitus                    |
| HGMD               | Human Gene Mutation Database         |

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dünyada yaklaşık 4,8 milyon insan diyabet hastalığından öldükleri öngörülmektedir. Dünyada var olan diyabet hastalarının %5'ini MODY hastaları oluşturduğu düşünülmektedir. Bu oranın da %2'sine yakın kısmını MODY3 hastaları oluşturmaktadır (Fajans et al, 1987).

MODY insüliniden bağımsız monogenik diyabet ailesinin bir formudur. HNF1A DNA transkripsiyon faktör geni, HNF-1 $\alpha$  transkripsiyon faktörü kodlar ve bu genin mutasyonu “Maturity Onset Young Diabetes tip 3” (MODY3) hastalığına neden olmaktadır. (HNF-1 $\alpha$ ) birçok dokudan ( karaciğer, mide, pankreas) salgılanan önemli transkripsiyon faktördür. Karaciğere bağlı birçok genin, özellikle glikoz metabolizması ve taşınım ile ilgili genlerin düzenlemesini gerçekleştirir. MODY3 genç yaşlarda (25 yaşın altında) karakterize edilen dominant kalıtılan ve ileri düzeyde  $\beta$ -hücre bozukluğuna neden olan hastalıktır. HNF-1 $\alpha$  geninde 10 ekson bulunmaktadır. Bu on eksonda oluşan mutasyonların belirlenmesi, MODY3 sendromunun belirlenmesinde en önemli aşamadır (Ellard et al, 2006).

Birçok toplumda HNF-1 geninde mutasyonlar MODY'nin en yaygın sebebidir. Bugüne kadar tüm ırk ve etnik gruplarda bu gende 120 den fazla mutasyon tespit edilmiştir. HNF-1 genindeki mutasyonlar diyabet kliniklerinde görülen erişkinler arasındaki MODY'nin en yaygın sebebi gibi görünmektedir. Bunun aksine HNF-4 geninde mutasyonlar nispeten nadirdir ve bugüne kadar sadece dünya genelinde 13 ailede tespit edilmiştir (Atabek ve ark, 2004) .

Bu çalışmanın amacı, HNF1A DNA transkripsiyon faktör geni mutasyonlarını saptamak ve bunların MODY3 hastalığının oluşumundaki önemini, hastalığın erken tanı ve prognozundaki ilişkilerini ortaya koymaktır. Daha önce Türkiye’de HNF1A geninde oluşan mutasyonlar ve onların MODY sendromuna etkisi çalışılmamıştır. Bu nedenle, Türk popülasyonda HNF1A geninde oluşan mutasyonları ve bunların MODY3 sendromu oluşumunda önemi ortaya koymak oldukça özgün değere sahiptir.

### 1.1 MODY Sendromunun Tarihçesi

MODY diyabetin monogenik formu olup, otozomal dominant hastalıktır. Tip-2 diyabetin nadir formu olarak, İlk kez Amerikalı gençlerde ortaya konulmuştur.

1960'ların başında araştırmacılar, ailesel, obez olmayan, genlerde oluşan ve ağız yoluyla alınan sulfonilüre ilaçlarına yanıt verdiği belirlenmiştir 1964'de S.Fajans MODY (Maturity Onset Diabetes Young) hastalığını tanımlamıştır (Winter et al,2000) Tip 2 diyabetlilerin ortalama %10'unun yavaş gelişen Tip 1 diyabet formunda olduğu bildirilmektedir (Fajans et al, 1960). Bu hastaları belirlemede immün değerlerin saptanması (ICA, GAD 65, vb.) önemlidir. MODY hastalarında insülin eksikliği, hepatik glikoz yapımında artma ve periferik insülin duyarlılığında bozukluk söz konusudur. Bu durumun sonucunda glikoz metabolizmasının bozulması görülmektedir (Fajans et al, 1987).

Günümüze kadar MODY sendromunun neden olan birçok gen belirlenmiştir (Bkz. Ek 8) . Tüm bu genler karaciğer beta hücrelerinde eksprese edilir ve herhangi birindeki bir mutasyon beta hücre fonksiyon bozukluğuna ve diyabete yol açmaktadır. Bu genler karaciğer ve böbrek gibi dokularda da eksprese edildikleri için bazı MODY formlarında karaciğer ve böbrek fonksiyon bozuklukları da görülebilir.

HNF-4, HNF-1'nin ekspresyonunu regüle ettiği için HNF-4 ve HNF-1 mutasyonlarında klinik olarak birbirine çok benzerdir. MODY tip 1 ve tip 3'te açlık kan şekeri MODY tip 2'ye benzer şekilde hafifçe yüksektir, oysa glikoz verilmesinden 2 saat sonra kan şekeri MODY tip 2'li hastalara nazaran çok daha yüksek bulunur. Bu hastaların hiperglisemi sorunları ilerleyen zamanla oral hipoglisemik ilaçlar ve insülin tedavisi (%30-40) gereksinimi ile sonuçlanmaktadır. Örneğin HNF-4 ile ilişkili MODY olan geni bir ailede yapılan perspektif bir çalışmada glikozla uyarılımı insülin sekresyonunu her yıl %1-4 oranında azaldığı gösterilmiştir. Bu artış, hücrelerinin HNF-4'nin eksikliğini kompanse edemediğini göstermektedir. HNF-1 ve HNF-4 ilişkili MODY'li hastalar tip 1 veya tip 2 diyabetli hastalardaki kadar yaygın diyabet komplikasyonlarına sahip olabilirler. Bu iki tip MODY'li hastalarda insülin aktivitesindeki bir bozukluktan ziyade bozulmuş hücre fonksiyonu diyabetin primer sebebi olarak görünmektedir. Gece açlıktan sonra insülin sekresyonunu normaldir ancak plazma glikoz konsantrasyonu 125-145 mg/dl ye yükseldiği zaman insülin sekresyonunu artmaya devam etmez. HNF-1 ve HNF-4 mutasyonu olan hastaları ikinci bir glikoz uyarısının insülin sekresyon cevabı gücüne göre ayırmak mümkündür. Pediatrik durumda insülin

sekresyonu üzerine hafif hipergliseminin normal priming etkisi korunurken, HNF-4 mutasyonlularda kaybolmuştur (Atabek ve ark, 2004).

## 1.2 . MODY VE Tip 2 DM Kıyaslanması

Klasik MODY ilk olarak şu şekilde karakterize edilmiştir:

- 1) Gençlik yaşında olması (genellikle 25 yaşın altında)
- 2) diagnozu 2 yıl takiben insülin gereksinimi olmadan açlık hiperglisemi oluştuğunu doğrulanması
- 3) Ketotik hastalık olmadığı
- 4) Otozomal dominant hastalık olması
- 5) MODY'nin bu formları yavaş progresiftir, ılımlı ve asimtomatiktir ve genellikle insülin gerektirmez.

MODY ve Tip2 DM ayırıcı özellikleri aşağıdaki çizelgede açıklanmıştır (Bk. Çizelge 1.1 ), (Atabek ve ark, 2004).

Çizelge 1.1 MODY ve tip 2 diyabetin ayırıcı özellikleri

| Özellikler        | MODY                                                             | TİP 2 DM                                                                 |
|-------------------|------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| Kalıtım           | Monogenik otozomal dominant                                      | Poligenik                                                                |
| Başlangıç yaşı    | Çocukluk çağı adölesan veya genç erişkin ya (genellikle < 25yıl) | Yetişkinler (genellikle 40-60), eğer birey obez ise nadiren adölesan çağ |
| Aile Ağacı        | Genellikle her kuşakta ortaya çıkar                              | Nadiren her kuşakta ortaya çıkar                                         |
| Penetrans         | %80-95                                                           | %10-40                                                                   |
| Metabolik Sendrom | Yok                                                              | Genellikle var                                                           |

Hindistan’da basit bir anket oluşturarak; ailelerin diyabet hikâyesi, tedaviye yanıt ve ketozun varlığı abdominal bölge X-Ray’i ile belirlenmeye çalışılmıştır. Ayrıca, C-peptid, insülin antibody ve karın bölgesi yansılanım aygıtı bu proses rafine etmeye yardımcı olmuştur. Ancak kabul edilmelidir ki, bazı Tip 1 DM ve Tip 2 DM hastalarının özellikler birbirine benzer olduğu için ayırım yapmak oldukça güç olmaktadır (Mohan et al. 2013) .

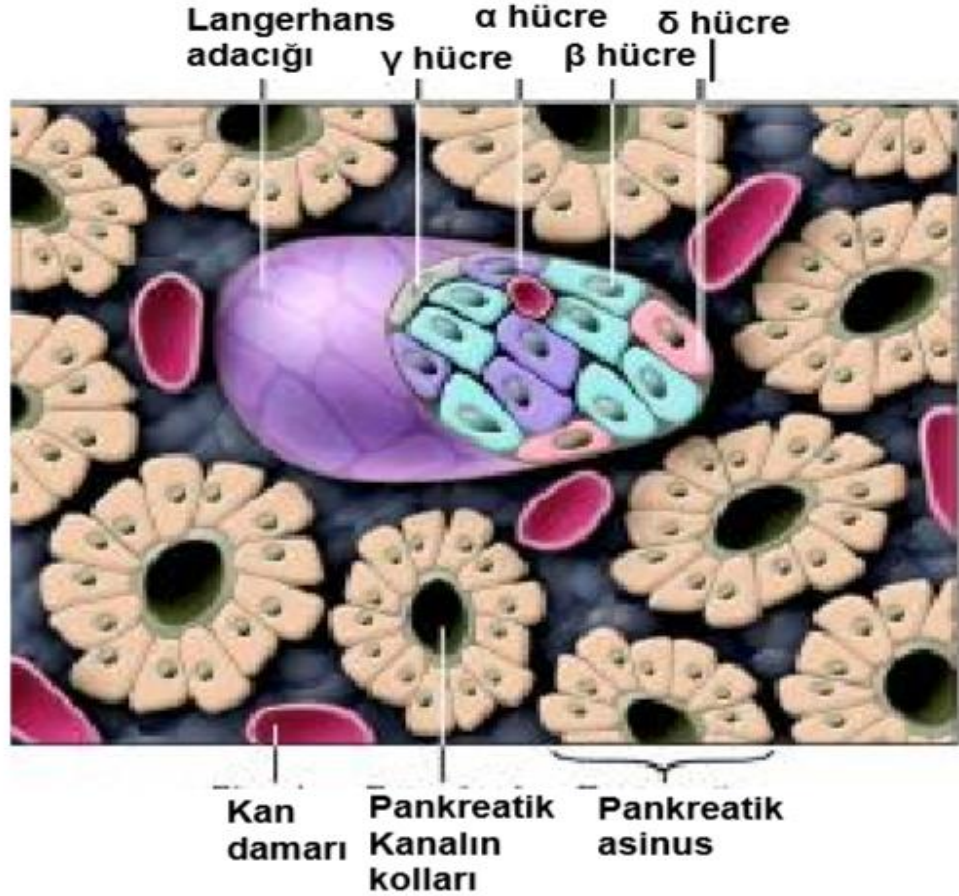
## 2. MODY OLUŞUMUNUN MOLEKÜLER MEKANİZMASI

Diyabet, pankreasın beta hücrelerinden salgılanan insülin hormonunun mutlak veya kısmi eksikliği ya da periferik etkisizliği sonucu ortaya çıkan, kronik hiperglisemi, karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasında bozukluklar, kapiller membran değişiklikleri ve hızlanmış arter skleroz ile seyreden, makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonların geliştiği, akut komplikasyonları önlemek ve kronik komplikasyonları azaltmak için sürekli destek, tıbbi bakım ve diyabetlinin öz bakım eğitimlerini gerektiren, sağlık bakım harcamaları içinde en az %10'luk yer tutan kronik seyirli endokrin ve metabolik bir hastalıktır (Olgun ve ark. 2010).

### 2.1 Beta Hücre Fonksiyonu

İnsan pankreası, içine hormonların salgılandığı küçük kapillerler çevresinde organize olmuş, her biri yaklaşık 0,3 milimetre çapında 1-2 milyon *Langerhans* adacığına sahiptir (Bkz. Şekil.2.1.1.). Bu adacıklar, birbirlerinden morfolojileri ve boynama özellikleri ile ayırt edilen başlıca üç farklı tipte hücre içerirler. Bunlar alfa, beta ve delta hücreleridir. Beta hücreler tüm hücrelerin yaklaşık %60'ını oluştururlar ve temel olarak adacıkların ortasında yer alırlar. Bu hücreler insülin ve insülinle birlikte amilin salgırlar. Toplam hücre sayısının %25 kadarını oluşturan alfa hücreleri glukagon salgırlar. Toplam hücre sayısının % 10 kadarını oluşturan delta hücreleri ise, somatostatin salgırlar. Ayrıca adacığın %2'si endokrin dokudan oluşmaktadır ve pankreas polipeptidi de, polipeptid hücrelerinden salgılanmaktadır (Guyton et al,1998 ).

Bütün hücrelerde insülin geni mevcut olmasına rağmen, sadece beta hücreleri insülin ekspresyonu yapma yeteneğindedir. Beta hücrelerinde insülin kısıtlı ekspresyonu, transkripsiyon faktörlerinin insülin transkripsiyon başlatılmasının geninin kontrolü sonucu ortaya çıkar. Bundan ziyade, birçok beta hücre transkripsiyon faktörleri hem insülin gene ekspresyonunu, hem de pankreas ve beta hücre embriyogenesiz sürecinde gelişimini kontrol etmektedir.(Guyton et al, 1998)



Şekil 2.1 Pankreasta bulunan *Langerhans* adacığının yapısı

Glikozun hücre içinde dengesi pankreatik beta ( $\beta$ )-hücrelerinden salgılanan insülin hormonu ve buna yanıt olarak perifer hücrelerin glikozu hücre içine alması ile sağlanır. Bu dengenin sağlanabilmesi için insülinin gerektiği zaman ve gereken oranda salgılanması, perifer hücrelerin de buna yanıt verebilmesi gerekir. Bu sayede kan glikoz düzeyi dar bir aralıkta sabit (3.3-8.3 mmol/l) tutulur. İnsülin salınım mekanizmasının aydınlatılmasıyla, pankreatik  $\beta$ -hücrelerinin ATP-duyarlı potasyum kanallarının (KATP) glikoz homeostazisinde kritik bir rol oynadığı da ortaya çıkmıştır. KATP kanalları sadece pankreatik insülin salınımında değil, periferel hücrelerde iskelet kasına glikozun alınımının düzenlenmesi, karaciğerden glikoz üretiminin kontrol edilmesi ve glukagon gibi hormonların salınımını artırarak merkezi ve periferel hipoglisemiye karşıt-düzenleyici cevabın kolaylaştırılması gibi rollere de sahiptir (McTaggart, 2010).

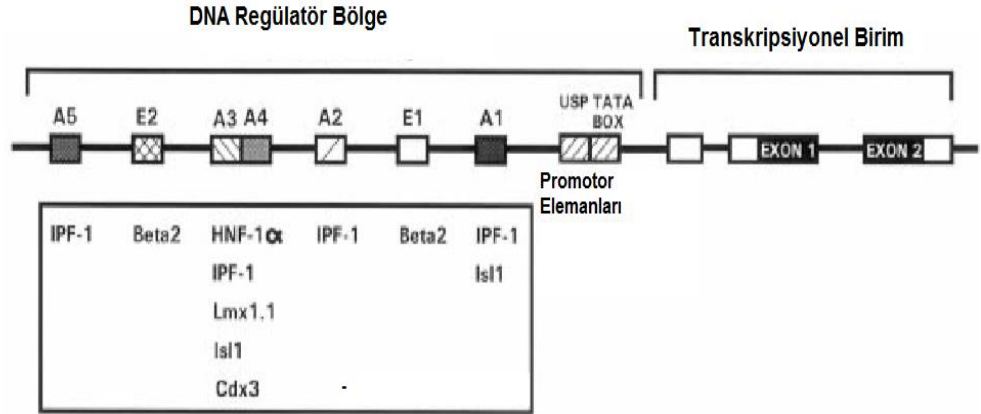
## 2.2 Beta ( $\beta$ )- Hücrelerinde İnsülin Regülasyonu

İnsülin üretimi ve salınımı çok kompleks prosestir. İnsülin transkripsiyonu beta hücrelerine özel bir prosestir. Bundan dolayı insülin transkripsiyon kontrolü sadece beta hücrelerine bağlı bir olaydır. Beta hücreleri transkripsiyon faktörlerinde oluşan mutasyonlar insülin üretim mekanizmasının direk etkilemektedir (Bkz. Çizelge 2.1) (Winter, 2000).

Çizelge 2.1 Moleküler beta ( $\beta$ )- hücre bozuklukları (Winter, 2000)

| <u>Proses</u>                                         | <u>Tespit Edilen Hasar</u>                                                  | <u>Etki</u>                                                                       |
|-------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| <u>Glikoz Taşınımı</u>                                | <u>GLUT2 mutasyonu Fanconi-Bickel sendromu</u>                              | <u>Yemekten sonra hipoinsulinizm ve hiperglisemi, açlık süresince hipoglisemi</u> |
| <u>Glikoz Metabolizması</u>                           | <u>GCK mutasyonu: ↓ fonksiyon</u><br><u>GCK mutasyonu: ↑ fonksiyon</u>      | <u>MODY2</u><br><u>Ailesel neonatal hiperinsulinizm</u>                           |
| <u>Enerji Üretimi</u>                                 | <u>Mitokondriyel mutasyon</u>                                               | <u>Anneden kalıtılan diyabet</u>                                                  |
| <u>K<sup>+</sup> kanal kapama</u>                     | <u>SUR ve K<sub>ir</sub> 6.2 kanallarının işlevini etkileyen mutasyon</u>   | <u>Ailesel neonatal hiperinsulinizm</u>                                           |
| <u>Membran Depolarizasyon</u>                         | <u>Belirlenen Hasar yok</u>                                                 | <u>-----</u>                                                                      |
| <u>Voltaj duyarlı Ca<sup>++</sup> kanalı açılması</u> | <u>Belirlenen Hasar Yok</u>                                                 | <u>-----</u>                                                                      |
| <u>Sitoplazmik Ca<sup>++</sup> artışı</u>             | <u>Belirlenen Hasar Yok</u>                                                 | <u>-----</u>                                                                      |
| <u>İnsülin Gen Ekspresyonu</u>                        | <u>HNF-4<math>\alpha</math></u>                                             | <u>MODY1</u>                                                                      |
|                                                       | <u>HNF-1<math>\alpha</math></u>                                             | <u>MODY3</u>                                                                      |
|                                                       | <u>IPF-1</u>                                                                | <u>MODY4</u>                                                                      |
|                                                       | <u>HNF-1<math>\beta</math></u>                                              | <u>MODY5</u>                                                                      |
| <u>İnsülin İşleme</u>                                 | <u>İnsülin geni A veya B zincirinin C-peptid bölgesinde oluşan mutasyon</u> | <u>Hiperproinsulinemi</u>                                                         |
| <u>İnsülin Bioaktivitesi</u>                          | <u>İnsülin geninde oluşan mutasyon</u>                                      | <u>İnsulinopati</u>                                                               |

İnsülin geninde transkripsiyon sürecinden sorumlu birçok temel element mevcuttur. Bunlar translasyonel promotor, enhanserler, silenserler, aktivatörler ve supresörlerdir. İnsülin genini düzenleyen farklı transkripsiyon faktörleri, DNA regülatör bölgesinde bulunan farklı (A ve E) birimlere bağlanarak transkripsiyon regülasyonunu gerçekleştirmektedir (Bkz. Çizelge 2.1), (Latchman, 1996).



Şekil 2.2 İnsülin geni DNA düzenleyici bölgesi modeli (Winter, 2000)

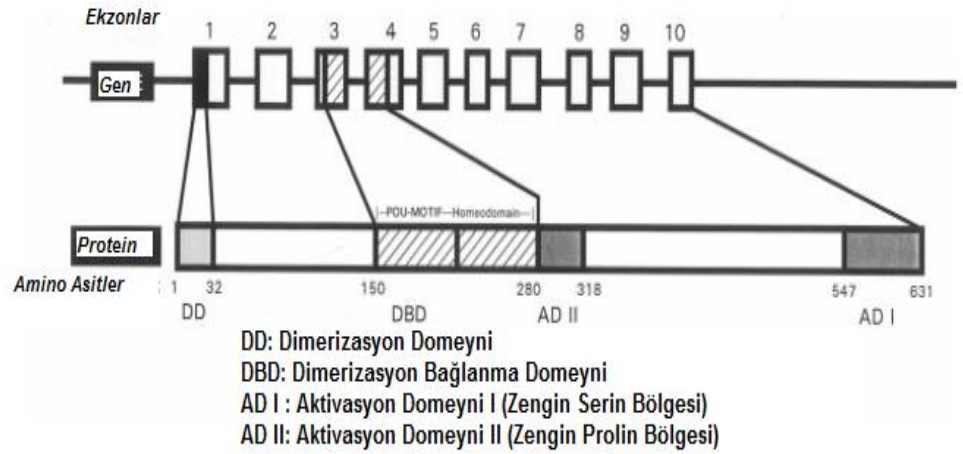
Bütün hücrelerde insülin geni mevcut olmasına rağmen, sadece beta hücreleri insülin ekspresyonu yapma yeteneğindedir. Beta hücrelerinde insülin kısıtlı ekspresyonu, transkripsiyon faktörlerinin insülin transkripsiyon başlatılmasının geninin kontrolü sonucu ortaya çıkar. Bundan ziyade, birçok beta hücre transkripsiyon faktörleri hem insülin gene ekspresyonunu, hem de pankreas ve beta hücre embriyogenesiz sürecinde gelişimini kontrol etmektedir (Winter,2000).

### 3. MODY GENETİĞİ

HNF1A (MODY3) geni mutasyonları diyabete neden olma mekanizması tam anlaşılmamıştır. Ama çalışmalarda önerilen bu genlerde oluşan mutasyonlar insülin transkripsiyonundaki azalmaya neden olduğundan, insülin miktarında da önemli azalmanın diyabete neden olmasıdır (Winter, 2000).

#### 3.1 HNF1A Transkripsiyon Faktörü Geni ve Proteini

HNF1A geni 12q kromozomda bulunmaktadır. HNF1A bir homeodomeyn (homeokutu) proteini olup, 3 tane fonksiyonel domeynleri vardır: dimerizasyon domeyni 1-32 ye kadar amino asidi içeriyor, DNA-bağlanma homeodomeyn benzer domeyni 150-280 amino asidi içeriyor ve karboksil terminal transaktivasyon domeyni 281. amino asitten 631. Amino aside kadar (Bkz. Şekil.3.1) (Winter, 2000).



Şekil 3.1. HNF1A geni gösterimi.

HNF1A transkripsiyon faktörü kodlar ve birçok farklı genin transkripsiyonunda sorumludur. Transkripsiyona bağlı düzenleme, ökaryot genlerinin faaliyetinde çok önemli olup bu düzenleme büyük ölçüde mRNA sentezi düzeyinde kontrol edilmektedir (Bkz. Şekil 3.2. ).

Learn how to print this alignment in color

|     |                                                               |     |        |
|-----|---------------------------------------------------------------|-----|--------|
| 1   | MVSKLSQLQTELLAALLESGLSKEALIQUALGEPGPYLLAGEGPLDKGESCGGGRGELAEI | 60  | P20823 |
| 1   | MVSKLSQLQTELLAALLESGLSKEALIQUALGEPGPYLLAGEGPLDKGESCGGGRGELAEI | 60  | E2I9R4 |
| 61  | PNGLGETRGSEDETDGDEFTPPILKELENLSPEEAAHQKAVVETLLQEDPWRVAKMVK    | 120 | P20823 |
| 61  | PNGLGETRGSEDETDGDEFTPPILKELENLSPEEAAHQKAVVETLLQEDPWRVAKMVK    | 120 | E2I9R4 |
| 121 | SYLQQHNIPQREVVDITGLNQSHLSQHLNKGTPMKTQKRAALYTWYVRKQREVAQQFTHA  | 180 | P20823 |
| 121 | SYLQQHNIPQREVVDITGLNQSHLSQHLNKGTPMKTQKRAALYTWYVRKQREVAQQFTHA  | 180 | E2I9R4 |
| 181 | GQGGLEEPTGDELPTKKGRNRFKWGPASQQILFQAYERQKNPSKEERETLVEECNRAE    | 240 | P20823 |
| 181 | GQGGLEEPTGDELPTKKGRNRFKWGPASQQILFQAYERQKNPSKEERETLVEECNRAE    | 240 | E2I9R4 |
| 241 | CIQRGVSPSQAQGLGSLNLTVEVRVYNWFANRRKEEAFRHKLAMDTYSGPPPGPGPALP   | 300 | P20823 |
| 241 | CIQRGVSPSQAQGLGSLNLTVEVRVYNWFANRRKEEAFRHKLAMDTYSGPPPGPGPALP   | 300 | E2I9R4 |
| 301 | AHSSPGLPPPALSFSKVHGVRYGQPATSETAEVPSSSGGPLVTVSTPLHQVSPGTGLEPSH | 360 | P20823 |
| 301 | AHSSPGLPPPALSFSKVHGVRYGQPATSETAEVPSSSGGPLVTVSTPLHQVSPGTGLEPSH | 360 | E2I9R4 |
| 361 | SLLSTEAKLVSAAGGPLFPVSTLTALHSLEQTSPLNQPPQNLMASLPGVMTIGPGPEA    | 420 | P20823 |
| 361 | SLLSTEAKLVSAAGGPLFPVSTLTALHSLEQTSPLNQPPQNLMASLPGVMTIGPGPEA    | 420 | E2I9R4 |
| 421 | SLGPTFTNTGASTLVIGLASTQAQSVFVINSMGSSLTTLQPVQFSQPLHPSYQQPLMPFV  | 480 | P20823 |
| 421 | SLGPTFTNTGASTLVIGLASTQAQSVFVINSMGSSLTTLQPVQFSQPLHPSYQQPLMPFV  | 480 | E2I9R4 |
| 481 | QSHVTQSPFMAQLQSPHALYSHKPEVAQYHTGLLPQTMLITDTTNLSALASLTPTK      | 540 | P20823 |
| 481 | QSHVTQSPFMAQLQSPHALYSHKPEVAQYHTGLLPQTMLITDTTNLSALASLTPTK      | 540 | E2I9R4 |
| 541 | -----QVFTSDTEASSESLHTPASQATTLHVPS                             | 569 | P20823 |
| 541 | QVRSRPAGPPSACDRAPHPHIPRAQEALLPQVFTSDTEASSESLHTPASQATTLHVPS    | 600 | E2I9R4 |
| 570 | QDPAGIQHLQPAHRLSASPTVSSSSLVLYQSSDSSNGQSHLLPSNHSVIETFISTQMASS  | 629 | P20823 |
| 601 | QDPASIQHLQPAHRLSASPTVSSSSLVLYQSSDSSNGQSHLLPSNHSVIETFISTQMASS  | 660 | E2I9R4 |
| 630 | SQ                                                            | 631 | P20823 |
|     | SQ                                                            |     |        |

Şekil 3.2 HNF1A geni amino asit zinciri (The Universal Protein Resource (UniProt), 2014)

HNF1A transkripsiyon faktörü kodlar ve birçok farklı genin transkripsiyonundan sorumludur. Transkripsiyona bağlı düzenleme, ökaryot genlerinin faaliyetinde çok önemli olup bu düzenleme büyük ölçüde mRNA sentezi düzeyinde kontrol edilmektedir.

Böceklerde gelişmeyi kontrol eden birçok gen, DNA'ya bağlanan bir protein bölgesi veya alanını kodlayan ve homeobaks (homeotik gen grubu) adı verilen tekrarlanan bir motife sahiptir. 180 baz çifti içeren bu motif, 60 amino asit kökünden oluşan ve homeoalan veya homeobölge adı verilen bir proteini

kodlamaktadır. Homeoalanda bazik karakterli amino asit köklerinin yüksek miktarda bulunması, bunun DNA'ya bağlandığı kanısını uyandırmaktadır (Bkz. Şekil 1.3).

|     |                                                                |     |        |
|-----|----------------------------------------------------------------|-----|--------|
| 1   | MVSKLSQLQTELLAALLESGLSKEALIQAALGEPGPYLLAGEGPLDKGESCGGGRGELAE   | 60  | P20823 |
| 1   | MVSKLSQLQTELLAALLESGLSKEALIQAALGEPGPYLLAGEGPLDKGESCGGGRGELAE   | 60  | E2I9R4 |
| 61  | PNGLGETRGSEDETDDGDFTPPILKELENLSPEEAHQKAVVETLLQEDPWRVAKMVK      | 120 | P20823 |
| 61  | PNGLGETRGSEDETDDGDFTPPILKELENLSPEEAHQKAVVETLLQEDPWRVAKMVK      | 120 | E2I9R4 |
| 121 | SYLQQHNI PQREVVDITGLNQSHLSQHLNKGTPMKTQKRAALYTWYVRKQREVAQQFTHA  | 180 | P20823 |
| 121 | SYLQQHNI PQREVVDITGLNQSHLSQHLNKGTPMKTQKRAALYTWYVRKQREVAQQFTHA  | 180 | E2I9R4 |
| 181 | GQGGGLIEEPTGDELPTKKGRNRNFKWGPASQQILFQAYERQKNPSKEERETLVEECNRAE  | 240 | P20823 |
| 181 | GQGGGLIEEPTGDELPTKKGRNRNFKWGPASQQILFQAYERQKNPSKEERETLVEECNRAE  | 240 | E2I9R4 |
| 241 | CIQRGVSPSQAQGLGSNLVTEVRVYNWFANRRKEEAFRHKLAMDTYSGPPPGPGPGPALP   | 300 | P20823 |
| 241 | CIQRGVSPSQAQGLGSNLVTEVRVYNWFANRRKEEAFRHKLAMDTYSGPPPGPGPGPALP   | 300 | E2I9R4 |
| 301 | AHSSPGLPPPALS PSKVHGVRYGQPATSETAEVPSSSGGPLVTVSTPLHQVSPGTGLEPSH | 360 | P20823 |
| 301 | AHSSPGLPPPALS PSKVHGVRYGQPATSETAEVPSSSGGPLVTVSTPLHQVSPGTGLEPSH | 360 | E2I9R4 |
| 361 | SLLSTEAKLVSAAGGPLPPVSTLTALHSLEQTSPLNQQPQNLMASLPGVMTIGPGGEP     | 420 | P20823 |
| 361 | SLLSTEAKLVSAAGGPLPPVSTLTALHSLEQTSPLNQQPQNLMASLPGVMTIGPGGEP     | 420 | E2I9R4 |
| 421 | SLGPTFTNTGASTLVIGLASTQAQSVFVINSMGSSSLTTLQPVQFSQPLHPSYQQPLMPFV  | 480 | P20823 |
| 421 | SLGPTFTNTGASTLVIGLASTQAQSVFVINSMGSSSLTTLQPVQFSQPLHPSYQQPLMPFV  | 480 | E2I9R4 |
| 481 | QSHVTQSPFMATMAQLQSPHALYSHKPEVAQYTHTGLLPQTMLITDTTNLSALASLTPTK   | 540 | P20823 |
| 481 | QSHVTQSPFMATMAQLQSPHALYSHKPEVAQYTHTGLLPQTMLITDTTNLSALASLTPTK   | 540 | E2I9R4 |
| 541 | -----QVFTSDTEASSESGLHTPASQATTLHVPS                             | 569 | P20823 |
| 541 | QVRSRPAGPPSACDRAPHPHIPRAQEALLPQVFTSDTEASSESGLHTPASQATTLHVPS    | 600 | E2I9R4 |
| 570 | QDPAGIQHLQPAHRLSASPTVSSSSLVLYQSSDSNNGQSHLLPSNHSVIETFISTQMASS   | 629 | P20823 |
| 601 | QDPASIQHLQPAHRLSASPTVSSSSLVLYQSSDSNNGQSHLLPSNHSVIETFISTQMASS   | 660 | E2I9R4 |
| 630 | SQ                                                             | 631 | P20823 |

Şekil 3.3 DNA bağlanma Bölgesi (homeoalan) (The Universal Protein Resource (UniProt), 2014)

Homeobaks sadece böceklerle özgü bir motif değildir. Bu motif aynı zamanda amfibiler ve insan dâhil çalışılan birçok omurgalının homeotik genlerinde de saptanmıştır. Şimdiye kadar çeşitli organizmalarda homeobaks motifine sahip yüzden fazla gen saptanmıştır. Gen faaliyetlerinin kontrolünde rol oynayan proteinlerin aktifliği allosterik değişimler ve tersinir kovalent etkileşimler ile

kontrol edilmektedir. Bu proteinler DNA'yı büyük ölçüde diğer proteinleri tanıdıkları gibi tanımaktadırlar. Bunlar öncelikle etkileşecekleri yüzey ile uygunluk gösteren bir üçüncül yapı oluşturmakta ve daha sonra geniş bir yüzeyde çok sayıda atomik etkileşimi sağlayabilecek yakınlıktaki bir mesafeye ulaşmaktadırlar. Protein ve DNA'nın birbirini tanıması, bir proteinin diğer proteini tanımasında olduğu gibi hidrojen bağları, iyonik ve hidrofobik etkileşimler aracılığı ile olmaktadır. Protein ve DNA arasındaki etkileşimin spesifikliğı ile ilgili problemler, büyük ölçüde X ışını kırınımı çalışmaları ile çözümlenmiştir. Bu çalışmalar, proteinlerin DNA'yı ortak yapısal motifler aracılığı ile tanıdıklarını ve bu tanımada simetrik bir uygunluğun da söz konusu olduğunu ortaya çıkarmıştır (Winter, 2000). HNF1A heliks-dönü-heliks yapısal motifini içermektedir (Bkz. Şekil.3.4).

|     |                                                              |     |        |
|-----|--------------------------------------------------------------|-----|--------|
| 1   | MVSKLSQLQTELLAALLESGLSKEALIQALGEPGPYLLAGEGPLDKGESCGGGRGELAE  | 60  | P20823 |
| 1   | MVSKLSQLQTELLAALLESGLSKEALIQALGEPGPYLLAGEGPLDKGESCGGGRGELAE  | 60  | E2I9R4 |
| 61  | PNGLGETRGSEDETDGDFTPILKELENLSPEEAAHQKAVVETLLQEDPWRVAKMVK     | 120 | P20823 |
| 61  | PNGLGETRGSEDETDGDFTPILKELENLSPEEAAHQKAVVETLLQEDPWRVAKMVK     | 120 | E2I9R4 |
| 121 | SYLQQHNIPQREVVDITGLNQSHLSQHNLKGTQKRAALYTWYVRKQREVAQQFTHA     | 180 | P20823 |
| 121 | SYLQQHNIPQREVVDITGLNQSHLSQHNLKGTQKRAALYTWYVRKQREVAQQFTHA     | 180 | E2I9R4 |
| 181 | GQGGLEEPTGDELPTKKGRNRFKWGPASQQILFQAYERQKNPSKEERETLVEECNRAE   | 240 | P20823 |
| 181 | GQGGLEEPTGDELPTKKGRNRFKWGPASQQILFQAYERQKNPSKEERETLVEECNRAE   | 240 | E2I9R4 |
| 241 | CIQRGVSPSQAQGLGSLNLTVEVRVYNWFANRRKEEAFRHKLAMDTYSGPPPGPGPALP  | 300 | P20823 |
| 241 | CIQRGVSPSQAQGLGSLNLTVEVRVYNWFANRRKEEAFRHKLAMDTYSGPPPGPGPALP  | 300 | E2I9R4 |
| 301 | AHSSPGLPPPALSPSKVHGVRYGQPATSETAEVPSSSGGPLVTVSTPLHQVSPTGLEPSH | 360 | P20823 |
| 301 | AHSSPGLPPPALSPSKVHGVRYGQPATSETAEVPSSSGGPLVTVSTPLHQVSPTGLEPSH | 360 | E2I9R4 |
| 361 | SLLSTEAKLVSAAGGPLPPVSTLTALHSLEQTSPLNQPPQNLMASLPGVMTIGPGEP    | 420 | P20823 |
| 361 | SLLSTEAKLVSAAGGPLPPVSTLTALHSLEQTSPLNQPPQNLMASLPGVMTIGPGEP    | 420 | E2I9R4 |
| 421 | SLGPTFTNTGASTLVIGLASTQAQSVPVINSMGSSLTTLQPVQFSQPLHPSYQQPLMPFV | 480 | P20823 |
| 421 | SLGPTFTNTGASTLVIGLASTQAQSVPVINSMGSSLTTLQPVQFSQPLHPSYQQPLMPFV | 480 | E2I9R4 |
| 481 | QSHVTQSPFMATMAQLQSPHALYSHKPEVAQYHTGLLPQTMLITDTNLSALASLTPTK   | 540 | P20823 |
| 481 | QSHVTQSPFMATMAQLQSPHALYSHKPEVAQYHTGLLPQTMLITDTNLSALASLTPTK   | 540 | E2I9R4 |
| 541 | -----QVFTSDTEASSESGLHTPASQATTILHVPS                          | 569 | P20823 |
| 541 | QVRSRPAGPPSACDRAPHPHIPRAQEALLPQVFTSDTEASSESGLHTPASQATTILHVPS | 600 | E2I9R4 |
| 570 | QDPAGIQHLQPAHRLSASPTVSSSSLVLYQSSDSSNGQSHLLPSNHSVETFIETQMASS  | 629 | P20823 |
| 601 | QDPASIQHLQPAHRLSASPTVSSSSLVLYQSSDSSNGQSHLLPSNHSVETFIETQMASS  | 660 | E2I9R4 |
| 630 | SQ                                                           | 631 | P20823 |
|     | SN                                                           |     |        |

Şekil 3.4 DNA heliks oluşturan bölge (The Universal Protein Resource (UniProt), 2014)

Proteinlerin tersinir fosforilasyonu prokaryot ve ökaryotlarda görülen önemli bir düzenleyici mekanizmadır. Protein kinaz ve fosfataz denilen enzimler bu düzenleme sürecinin fosforilasyon ve defosforilasyon kısımlarında rol oynarlar. Fosforilasyon ve defosforilasyon sonucu çoğu enzim ve reseptörün yapısında konformasyonel değişimi olur, bunun sonucu bunlar ya aktifleşir veya aktive olamaz. Ökaryotik proteinlerde fosforilasyonu genelde serin, treonin ve tirozin kalıntılarındadır. HNF1A protein serin ve treonin içeren bölgesi şekil gösterilmiştir (Bkz. Şekil 3.5.).

|     |                                                                |     |        |
|-----|----------------------------------------------------------------|-----|--------|
| 1   | MVSKLSQLQTELLAALLESGLSKEALIQALGEPGPYLLAGEGPLDKGESCGGGRGELAE    | 60  | P20823 |
| 1   | MVSKLSQLQTELLAALLESGLSKEALIQALGEPGPYLLAGEGPLDKGESCGGGRGELAE    | 60  | E2I9R4 |
| 61  | PNGLGETRGSEDETDGDDGEDFTPPILKELENLSPPEAAHQKAVVETLLQEDPWRVAKMVK  | 120 | P20823 |
| 61  | PNGLGETRGSEDETDGDDGEDFTPPILKELENLSPPEAAHQKAVVETLLQEDPWRVAKMVK  | 120 | E2I9R4 |
| 121 | SYLQQHNIPQREVVDITGLNQSHLSQHLNKGTPMKTQKRAALYTWYVRKQREVAQQFTHA   | 180 | P20823 |
| 121 | SYLQQHNIPQREVVDITGLNQSHLSQHLNKGTPMKTQKRAALYTWYVRKQREVAQQFTHA   | 180 | E2I9R4 |
| 181 | GQGGLIEEPTGDELPKKGRNRNRFKWPASQQILFQAYERQKNPSKEEREILVEECNRAE    | 240 | P20823 |
| 181 | GQGGLIEEPTGDELPKKGRNRNRFKWPASQQILFQAYERQKNPSKEEREILVEECNRAE    | 240 | E2I9R4 |
| 241 | CIQRGVSPSQAQGLGSNLVTEVRVYNWFANRRKEEAFRHKLAMDTYSGPPPGPGPGPALP   | 300 | P20823 |
| 241 | CIQRGVSPSQAQGLGSNLVTEVRVYNWFANRRKEEAFRHKLAMDTYSGPPPGPGPGPALP   | 300 | E2I9R4 |
| 301 | AHSSPGLPPPALSFSKVHGVRYGQPAITSETAEVPSSSGGPLVTSTPLHQVSPITGLEPSSH | 360 | P20823 |
| 301 | AHSSPGLPPPALSFSKVHGVRYGQPAITSETAEVPSSSGGPLVTSTPLHQVSPITGLEPSSH | 360 | E2I9R4 |
| 361 | SLLSSTEAKLVSAAGGPLPFVSTLTALHSLEQTSPLGNQQPQNLMASLPGVMITIGPGEPA  | 420 | P20823 |
| 361 | SLLSSTEAKLVSAAGGPLPFVSTLTALHSLEQTSPLGNQQPQNLMASLPGVMITIGPGEPA  | 420 | E2I9R4 |
| 421 | SLGPTFTNTGASTLVIGLASTQAQSVPVINSMGSSLTTLQPVQFSQPLHPSYQQPLMPFV   | 480 | P20823 |
| 421 | SLGPTFTNTGASTLVIGLASTQAQSVPVINSMGSSLTTLQPVQFSQPLHPSYQQPLMPFV   | 480 | E2I9R4 |
| 481 | QSHVTQSPFMATMAQLQSPHALYSHKPEVAQYTHIGLLPQTMLITDTNLSALASLTPTK    | 540 | P20823 |
| 481 | QSHVTQSPFMATMAQLQSPHALYSHKPEVAQYTHIGLLPQTMLITDTNLSALASLTPTK    | 540 | E2I9R4 |
| 541 | -----QVFTSDTEASSESGLHTPASQAATTLHVPS                            | 569 | P20823 |
| 541 | QVRSRPAGPPSACDRAPHPHIPRAQEALLPQVFTSDTEASSESGLHTPASQAATTLHVPS   | 600 | E2I9R4 |
| 570 | QDPAGIQHLQPAHRLSASPTVSSSSLVLYQSSDSSNGQSHLLPSNHSVIETFIISTQMASS  | 629 | P20823 |
| 601 | QDPASIQHLQPAHRLSASPTVSSSSLVLYQSSDSSNGQSHLLPSNHSVIETFIISTQMASS  | 660 | E2I9R4 |
| 630 | SQ                                                             | 631 | P20823 |
|     | SQ                                                             |     |        |

Şekil 3.5 HNF1A protein serin ve treonin içeren bölgesi (The Universal Protein Resource (UniProt), 2014)

HNF-1 $\alpha$  promotor bölgesi ile etkileşimde bulunarak homodimer (HNF-1 $\alpha$  / HNF-1 $\alpha$ ) veya hnflb(hnfla/hnfla) ile heterodimer oluşturabilmektedir. (Winter, 2000) (Bk. Şekil.3.6)



Şekil 3.6 HNF-1 $\alpha$  transkripsiyon faktörünün üç boyutlu yapısı (National Center for Biotechnology Information (NCBI), 2014).

2 hepatosit nükleer faktör (HNF) hnf1a ve hnf1b dimerizasyon domeyni ve DNA bağlanma domeyni yönünden yüksek homoloji gösterirler. Her iki protein polarize epitelyum hücrelerinden salgılanırlar ve bulunduğu organlar; karaciğer, sindirim sistemi, pankreas ve böbrektir. HNF1a akciğerden eksprese olmazken, HNF1b karaciğer hücrelerinden eksprese olmadığı görülmektedir. Diğer organlardan ise HNF1a ve HNF1b yaklaşık aynı seviyede eksprese olmaktadır. Bu iki transkripsiyon faktörü arasında önemli fark ise embryonik gelişim sürecinde bunların ekspresyon başlangıcı farklılığıdır. (Pontoglio, 2000)

| Show All entries             |                                 |      |                        |                         |                          |                                                        |                               |
|------------------------------|---------------------------------|------|------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------------------------------------|-------------------------------|
| Show/hide columns (1 hidden) |                                 |      |                        |                         |                          |                                                        |                               |
| Filter                       |                                 |      |                        |                         |                          |                                                        |                               |
| Name                         | Transcript ID                   | bp   | Protein                | Biotype                 | CCDS                     | RefSeq                                                 | Flags                         |
| HNF1A-001                    | <a href="#">ENST00000257555</a> | 3442 | <a href="#">631 aa</a> | Protein coding          | <a href="#">CCDS9209</a> | <a href="#">NM_000545</a><br><a href="#">NP_000536</a> | TSL:1 GENCODE basic APPRIS PI |
| HNF1A-023                    | <a href="#">ENST00000541395</a> | 3332 | <a href="#">662 aa</a> | Protein coding          | -                        | -                                                      | TSL:1 GENCODE basic           |
| HNF1A-201                    | <a href="#">ENST00000543427</a> | 2819 | <a href="#">452 aa</a> | Protein coding          | -                        | -                                                      | TSL:5 GENCODE basic           |
| HNF1A-203                    | <a href="#">ENST00000617366</a> | 2473 | <a href="#">235 aa</a> | Protein coding          | -                        | -                                                      | TSL:1 GENCODE basic           |
| HNF1A-202                    | <a href="#">ENST00000615446</a> | 2344 | <a href="#">227 aa</a> | Protein coding          | -                        | -                                                      | TSL:5 GENCODE basic           |
| HNF1A-002                    | <a href="#">ENST00000400024</a> | 2337 | <a href="#">542 aa</a> | Protein coding          | -                        | -                                                      | TSL:2 GENCODE basic           |
| HNF1A-025                    | <a href="#">ENST00000544413</a> | 2014 | <a href="#">638 aa</a> | Protein coding          | -                        | -                                                      | TSL:1 GENCODE basic           |
| HNF1A-024                    | <a href="#">ENST00000540108</a> | 3039 | <a href="#">119 aa</a> | Nonsense mediated decay | -                        | -                                                      | TSL:1                         |
| HNF1A-006                    | <a href="#">ENST00000560968</a> | 3030 | <a href="#">356 aa</a> | Nonsense mediated decay | -                        | -                                                      | CDS 5' incomplete TSL:1       |
| HNF1A-015                    | <a href="#">ENST00000538646</a> | 1649 | <a href="#">278 aa</a> | Nonsense mediated decay | -                        | -                                                      | TSL:1                         |
| HNF1A-014                    | <a href="#">ENST00000541924</a> | 1594 | <a href="#">247 aa</a> | Nonsense mediated decay | -                        | -                                                      | TSL:1                         |
| HNF1A-016                    | <a href="#">ENST00000544574</a> | 725  | <a href="#">41 aa</a>  | Nonsense mediated decay | -                        | -                                                      | TSL:1                         |
| HNF1A-017                    | <a href="#">ENST00000538626</a> | 582  | No protein             | Processed transcript    | -                        | -                                                      | TSL:1                         |
| HNF1A-020                    | <a href="#">ENST00000535955</a> | 434  | No protein             | Processed transcript    | -                        | -                                                      | TSL:1                         |
| HNF1A-003                    | <a href="#">ENST00000402929</a> | 3002 | No protein             | Retained intron         | -                        | -                                                      | TSL:2                         |
| HNF1A-021                    | <a href="#">ENST00000543255</a> | 762  | No protein             | Retained intron         | -                        | -                                                      | TSL:5                         |

Şekil 3.7. HNF1A geni 16 farklı alternatif “splicing” oluşan ürünler.

Bir gende, birden fazla bulunan kesim bölgelerinin seçilme farkına bağlı olarak o genden birden fazla mRNA sentezi gerçekleşebilmektedir. Bu olaya alternatif “splicing” adı verilir (Latchman, 2002). İnsanda bulunan genlerin %59’unda bu mekanizma ile birden fazla mRNA meydana gelmektedir. Oluşan mRNA’ların %80’inden ise, birbirinden tamamen farklı hatta zıt fonksiyonlu proteinler sentezlenebilmektedir. Protein düzeyinde gerçekleşen bu çeşitlilik alternatif “splicing” ile açıklanmaktadır. Alternatif “splicing”, genleri etkilemesinin yanı sıra gen ekspresyonunun kontrolünü sağlayan dizileri etkileyerek de gen ekspresyonunu değiştirebilmektedir (Faustino, 2003). HNF1A genine ait 16 farklı alternatif “splicing” olduğu bilinmektedir( Bkz. Şekil 3.7.).

### 3.2 HNF1A Transkripsiyon Faktörü Rolünün Moleküler Mekanizması

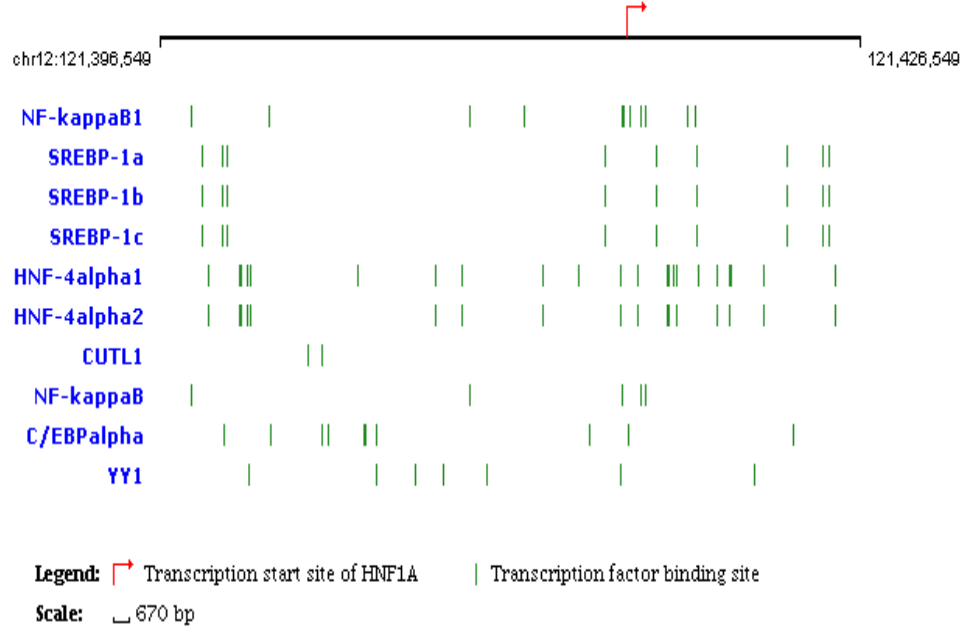
HNF1a karaciğer ve metabolik proseslerde önemli rol oynar . Bu faktör birçok karaciğere genin regülasyonundan sorumludur, bu genler; albümin Sitokrom P450 ailesinin 1 alt ailesi A polipeptit 2 (CYP1A2). Sitokrom P450 ailesinin 2 alt ailesi E polipeptit 1 (CYP2E1) ve Serpin Peptidaz inhibitör A (Alfa 1-antitripsin) genleridir. HNF-1a glikoz homeostazisinden sorumlu genlerin regülasyonunda majör faktördür (Pontoglio, 2000). Bu çözünmüş madde taşıyıcı (SLC5A1) (Martin et al, 2000) ve çözünmüş madde taşıyıcı (GLUT2) proteinin transkripsiyonunu regüle etmektedir .Ek olarak, HNF-1A insülin/enerji yolağı proteinlerin transkripsiyonunu aktive eder; özellikler insülin, insülin benzeri bağlanma proteini 1 (IBP1)ve adacık ailoidpolipeptidİ (Amylin) (Cluck et al, 2003)

HNF-1a ve HNF-1b faktörlerin her ikisi özellikle gelişimsel sinyal proteinlerin düzenlenmesinde önemlidir. Retina ve Rax homeokutu proteinin gelişiminde, pankreas ve duodenum homeokutu 1 proteini (Pdx-1(IPF1)) gelişiminde önemli görev üstlenmektedir (Ben-Shushan et al, 2001). Ayrıca, nükleer reseptör alt ailesi 5 A üye 2 (LRH1) (Zhang et al, 2001) ve diğer proteinlerin gen düzeyinde kontrolünü sağlamaktadır.

Ayrıca, HNF-1a ve HNF-1b birçok kolesterol taşıyıcı (Apolipoprotein A1, A2 ve B (APOA1 (Wade et al, 1994), APOA2 (Tanaka, et al, 2004)), ATP- binding cassette(ABCA1) (Langmann et al,2002)) ve iyon kanal proteinleri (kistik fibröz transmembran iletili regülatörü (CFTR)) (Mouchel et al, 2004). Ayrıca, çözünmüş madde taşıyıcı (Solute carrier) ailesi anyon değiştirici üyesi 2 (SLC4A2) (Arenas, 2008), Polikistik böbrek hastalığı (polikistin 2) transkripsiyonunu aktive eder (Gresh et al, 2004).

Hücre tiplerinin gelişimi süreci bir çok sınıf genlerin aktivasyonu veya represyonu ile mümkün olmaktadır. Bir hipoteze göre, dokulara özel faktörler transkripsiyon düzeyinde etkileşimi ile mümkün olmaktadır. Karaciğer transkripsiyon faktörü (TCF), HNF1A, tripsin1 ve fibrinojen genlerinin transkripsiyonundan sorumludur. HNF1 saflaştırması ile elde edilen bilgilere göre, HNF1 karaciğerde bulunan albümin, alfa-fetprotein, transtiredin gibi bir çok geninin promotor bölgesine bağlandığı

görülmüştür. Bulgulara esasen, karaciğer fenotipi oluşmasında bu faktör çok önemlidir (Courtois *et al*,1988).



Şekil 3.8 HNF1A Genini regüle eden transkripsiyon faktörleri ve bağlanma bölgeleri

Hepatosit nükleer faktörler 1 ve 4 (HNF1 ve HNF4) karaciğer çok miktarda bulunarak, karaciğere bağlı birçok genin ekspresyonunun regülasyonunu sağlamaktadır. HNF1 genlerin promotor bağlanmaktadır. Ancak HNF1 faktörü bağlanma noktası eksikliğinde kendi gen ekspresyonu ve HNF4 faktör bağlı birçok genin negatif regülasyonunu yapmaktadır. HNF1 represyonu HNF4'ün temel aktivasyon domeyni olan AF2 ile direkt etkileşimi ile kaldırılır. Hnf1a faktörü genlerin hem represyon, hem de aktivasyonunu sağlayan genel transkripsiyon faktörleridir (Ktistaki et al, 1997). HNF1A geni birçok farklı transkripsiyon faktörü ile düzenlenmektedir. Gen üzerinde birçok farklı transkripsiyon faktörü bağlanma bölgeleri mevcuttur (Bkz. Şekil 3.8).

### 3.3 DNA Analizi

#### 3.3.1 Denatürasyon ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

PCR; hedef olarak seçilmiş DNA molekülü içinden 100 ve 600 baz içeren kısa DNA dizisini invitro koşullarda klonlanlanması işlemidir. İlk kez Kaliforniya'da Dr. Kary Banks Mullis tarafından 1980'lerde keşfedildi. Dr. Kary Banks Mullis PCR'ın keşfi ve kimyanın Nobel ödülünü almıştır (McPherson and Moller, 2000). Bu yöntemde çoğaltılması (replikasyon) istenen DNA örneği, replikasyon için gereken maddelerle birlikte bir tüpe konarak, üç değişik ısıda bir döngü içerisinde tutulur. İlk basamak DNA'nın denatürasyonudur. DNA'nın iki zinciri 94-95°C'de birbirinden ayrılır (denatürasyon). İkinci basamak bağlanmadır (yapışma = annealing). Ortama konmuş ve sadece çoğaltılmak istenen DNA bölgesine özgül iki primer, sıcaklığın (50-70°C'ye) düşürülmesiyle, ilk basamakta ayrılmış olan kalıp DNA'nın özgül oldukları bölgelerine bağlanırlar. Üçüncü basamak primerlerin uzamasıdır (sentez = extension). Optimum sentez sıcaklığı 72-74°C olan *Thermus aquaticus* (Taq) polimerazı (ya da ısıya dayanıklı başka polimerazlar) bu ısıda hedef DNA'ya yapışmış primerlerin 3' ucundan başlayarak istenen DNA bölgesinin sentezini yapar.

Yeni sentezlenen DNA da bir sonraki döngüde kalıp olarak kullanılır ve bu DNA parçaları geometrik olarak artar. Teoride özgül DNA parçası; siklus sayısı (n) ve başlangıçtaki hedef sayısına (t) bağlı olarak yaklaşık  $tx2^n$  sayısına ulaşır. Hedef sayısı, enzim, dNTP, primer konsantrasyonu ve çoğaltılan bölgenin birikmesi gibi nedenlerle ürün miktarı formüldeki sayıya ulaşmaz. Fakat milyonlarca kopyalık çok yüksek yoğunluğa ulaşan hedef DNA molekülünün PCR sonrası agaroz jel elektroforezi gibi bir yöntemle gösterilmesi oldukça kolaydır (Ataberk ve ark, 2010).

#### 3.3.2 DNA Analizi (Sekanslama)

DNA dizi analizleri yada sekanslama DNA birincil yapılarının tayininde ve nükleotid baz diziliminin belirlenmesinde kullanılan yöntemdir. Analiz bir nükleik asit dizisinin diğerine hibridizasyonuna dayanır.

1977 yılında Allan MAXAM- Walter GİLBERT ve Frederick SANGER tarafından iki farklı DNA dizi analizi yöntemi bulunmuştur. 1982 yılında Akiyoshi WADA

DNA dizi analizinin otomatik olarak yapılmasını önermiş ve robotlar geliştirilmeye başlanmıştır.

DNA Dizi Analizinde günümüzde birbirinden farklı iki yöntem kullanılmaktadır. Bu iki yöntem;

1- Maxam ve Gilbert'in kimyasal kırılma yöntemi

2- Sanger-Coulson'un zincir sonlanma yöntemi.

Bu iki yöntemden Sanger – Coulson'un yöntemi günümüzde daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemde dizisi saptanacak olan DNA ipliği yeni sentezlenecek iplik için kalıp olarak kullanılır. Yöntemin temeli DNA polimerazın dNTP'lerin (deoksiribonükleozit trifosfat) yanı sıra deoksiribozun 3' pozisyonunda OH grubu taşımayan ddNTP' leri de (dideoksiribonükleozit trifosfat) substrat olarak kullanabilmesine dayanır. Sentezlenen DNA' ya bir ddNTP'nin katılması 3' pozisyonunda OH grubu olmadığı için sentezi durdurur. Sekanslama yapılırken dört ayrı reaksiyon karışımı hazırlanır. Her bir karışım kalıp DNA zinciri, bir primer, dNTP'lerin dördü ve az miktarda ddNTP'lerden birini içerir. Özgül zincir sonlanması için her bir reaksiyonda farklı bir ddNTP bulunur. Reaksiyonların her birinde çok az miktarda modifiye nükleotit kullanıldığı için yeni zincir sentezi rastgele sonlanarak bir dizi DNA fragmenti meydana gelir Bu fragmentlere elektroforez uygulanır. Sanger yöntemin Manuel ve Otomatik Sekans yöntemleri mevcuttur.

#### Otomatik DNA Dizi Analizi

Artan analiz sayısı, uzun zaman ve yüksek iş gücü gerektirir. Bu gelişmeler sonucunda otomasyon kaçınılmaz olmuştur. Otomatik DNA dizi analizleri zaman kazancı yanında, standart çalışma koşulları ve elde edilen sonuçların değerlendirilmesinde de yarar sağlamıştır. Otomatik DNA dizi analiz cihazları basit olarak, sabit bilgisayarda yüklü programlar ile bu programların yönettiği elektroforez sistemini içerir. Elektroforetik ünitelerde bulunan lazer ışık kaynağı ile monokromatik bir ışık oluşturulur. Söz konusu DNA'nın bulunduğu jelmatriks bu monokromatik ışık ile taranır. Elektroforez süresince DNA'ya bağlanan floresan boya ışık ile taranan bölgeye geldiğinde uyarılır. Uyarılan boya kendi için karakteristik olan dalga boyunda ışığı geri yansır. Yansıyan bu ışık demeti bir

detektör tarafından kaydedilir. Bu veriler bilgisayar programları ile değerlendirilerek sonuçlar grafiksel ya da matematiksel olarak bilgisayar ekranına aktarılır. DNA dizi analizi cihazlarında 6 bazdan 1000 baza kadar güvenli okuma yapılabilmektedir (Boutin, 1997)

Otomatik dizi analizi cihazları Jel Sistemli Cihazlar (ABI Prism 370, 373, 377) ve Kapiler Sistemli Cihazlar (ABI Prism 310, 3100, 3700). ABI Prism 310 Kapiler sistemli cihaz iki ana parçadan oluşur. Birinci kısım veri ünitesidir. Veri ünitesi bir bilgisayar sisteminden ibarettir. Bu bilgisayarda, ikinci kısım ile bağlantıyı kuran ve ikinci kısmı kontrol eden programlar yüklüdür. İkinci kısım analizin yapıldığı elektroforez kısmıdır (Perkin Elmer, 2000). Cihazın çalışma prensibi: Cihaz komutu alınca uygun sıcaklığa ayarlanır. Kapilerin serbest ucu distile su tüpüne girer ve bir dizi işlem sonrası polimer kapiler içerisine tek taraflı yayılır. Kapilerin serbest ucu örnek içine girer. Oluşan elektriksel alan sonucu DNA parçaları kapiler boruya taşınır ve akımın kesilmesiyle kapilerin serbest ucu distile su içine döner. Kapillerin serbest ucu temizlenerek yürütme çözeltisine döner. Cihaza ters akım verilir, DNA parçaları kapilerin serbest ucundan polimer bloğa ardından lazer ünitesine geçer ve yaydığı floresan ışıkla tespit edilir.

Otomatik dizi analizinde en sık olarak ABI Prism Big Dye™ Terminatör Reaksiyon Kiti kullanılır. Bu PCR kitinin özelliği tüm PCR kimyasalları ile beraber, floresan boyalı ddNTP'ler ile Taq DNA Polimeraz enzimini de tek bir karışım halinde bulundurmasıdır. Bu ddNTP'lerin her biri farklı bir floresan boya ile işaretlenmiştir. Bu sayede tek bir reaksiyonla dizi analizi yapılabilir. Kit -15 ile -25 0C arasında saklanır. Kit tüm kalıp DNA'lar için ortak bir PCR protokolü içerir ve PCR süresi ortalama 2,5 saattir (Kubista et al, 2006).

Çizelge 3.1 ABI Prism Big Dye™ terminatör reaksiyon kitinde ddNTP'lerin işaretlendikleri floresan boya isimleri ile bunlara karşılık gelen renkler.

| ddNTP | Floras Boya | Renk    |
|-------|-------------|---------|
| A     | dR6G        | Yeşil   |
| T     | dROX        | Kırmızı |
| C     | dR110       | Mav     |
| G     | dTAMRA      | Siyah   |

## 4. GEREÇ VE YÖNTEMLER

### 4.1. Çalışma Grubu

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı Hastalıkları Anabilim Dalına başvuran ya da takip edilen MODY tip 3 ön tanılı olgulardan 150 hasta çalışmamızda yer almıştır.

Çalışma İzmir “1 numaralı Yerel Etik Kurulu” tarafından onaylanmış ve çalışmada yer alan hastaların tümü genetik çalışmalar için bilgilendirilmiş gönüllü olur formunu imzalamışlardır. Çalışmaya dahil edilen hastaların yaş aralığı 2-12 arasında olmuştur. Hastaların detaylı anamnezi, öz ve soy geçmişleri alınarak başvuru şikâyetleri ve muayene bulguları, analiz sonuçları ile olgu rapor formunda yer almıştır.

## 5. MOLEKÜLER YÖNTEMLER

### 5.1. Kan Örneklerinin Toplanması

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Endokrinoloji Bilim Dalında MODY klinik ön tanısıyla ilk başvuran, izlemde olan ve ya dış merkezlerden moleküler tanı amacıyla gönderilen 150 hasta (64 kız ve 86 erkek) çalışmaya alındı. Hastalara ait demografik veriler, klinik durumları, laboratuvar değerleri ve kullanılmış olan tedavi rejimlerine ait bilgiler geriye dönük olarak dosyalarından tarandı. Her hastadan bir EDTA'lı tüp kan alındı ve çalışılncaya kadar  $-20^{\circ}\text{C}$  tutuldu.

#### 5.2.1 Genomik DNA İzolasyon

Hastalardan EDTA'lı tüpe alınan periferik kandan 200 $\mu\text{l}$  alınarak genomik DNA eldesi için kullanılmıştır. . EDTA'lı Kandan Genomik DNA Ekstraksiyonu için tuzsuz ve kolon yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla PureLink Genomic DNA mini izolasyon Kiti (Invitrogen, Carlsbad, CA,) kullanılmıştır.

Genomik DNA eldesi işlemleri kit prospektüsüne göre yapıldı. Genomik DNA eldesinin aşamalarında kullanılan solüsyonların amaçları şu şekildedir:

Hücre lizis solüsyonu ile hücre zarının uzaklaştırılıp hücre içeriklerinin açığa çıkmasını, proteinaz K ile tüm hücresel ve nükleer histon proteinlerin ve RNA'nın uzaklaştırılmasını sağlar. Alkolle DNA'nın membranda presipitasyon basamağı ile yıkaması gerçekleştirilir. Membrana bağlama basamakları sonucunda alkol, protein ve membran lipid kontaminasyonlarından uzaklaştırılmış halde en son uygulanan elüsyon basamağında DNA'nın saf olarak eldesi sağlanır. Elüsyon tampon çözeltisi ile membrana bağlı kalan nükleik asidin %85-100'ü elde edilir.

Invitrogen Purelink Genomic Blood DNA Purification (K1820-01) DNA izolasyon mini Kit işlem prosedürü:

#### Hazırlama

- Su banyosu  $55^{\circ}\text{C}$ 'ye ayarlanır.
- Her hasta için 1,5 ml'lik ependorf, spin ve kolon tüpler hazırlanır.
- Etil alkol saf olması için yeni olarak hazırlanır. (%95>)

- Steril bir ependorf tüpüne 200µl donmuş çözölmüş ya da taze EDTA'lı kan örneği konur
- Üzerine 20 µl Proteinaz-K eklenir.
- 20 µl Rnase A eklenerek vortekslenir ve oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edilir.
- 200 µl Genomik/Lysis tamponundan eklenir ve homojen olana kadar vortekslenir.
- Protein sindirimini hızlandırmak için 55<sup>0</sup>C'de 10 dk. su banyosunda inkübe edilir.
- 200 µl %96-100'lük etil alkol eklenir, 15 saniye kadar vortekslenir.
- Ependorftaki lizattan toplama tüplerine ~640 µl eklenir.
- 8.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilir
- 500 µl Wash Buffer 1 ilave edilir.
- 8.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilir. Alt tüpler atılır ve temiz tüpe yerleştirilir.
- 500 µl Wash Buffer 2 ilave edilir.
- 3 dakika maksimum hızda santrifüj edilir. Kolonları atın ve temiz tüpe yerleştirilir.
- 25-200 µl (ort. 100 µl) Elution Buffer eklenir, 1-2 dakika oda ısısında bekletilir.
- Maksimum hızda 1 dakika santrifüj edilir.
- Kolondan Elde edilen DNA toplama tüpünde birikmiştir, buradan mikropipetle ependorfa aktararak +4C'de ya da -20<sup>0</sup>C'de saklanılarak, gerekirse seyreltilerek kullanılır.

DNA saflığının ölçölmesi için, NanoDrop Spektrofotometre cihazında 260/280 nm dalga boyunda DNA solüsyonunun absorbans intensitesi ölçölmüştür. Kontrol edilen bu DNA'dan HNF1A geni eksonlarına özğü PCR amplifikasyonu ve DNA direkt sekans reaksiyonları yapılmıştır.

### **5.2.2 DNA'nın Agaroz Jel Elektroforez Yöntemiyle Kalite Kontrolü**

2 µl (100 ng) DNA çözeltisi %1'lik agaroz jelde elektroforez işlemine tabi tutuldu. Elektroforez işlemi için agarozdan 2 gr tartılarak 100 uL 1 XTBE tapon çözeltisinden manyetik boncuk ile karıştırılıp mikrodalga fırında eritilmesinin ardından homojen görünüme ulaşmış ve 60 C'ye soğutulmuştur. Üzerine 10 ug/mL konsantrasyonunda etidyum bromide (Sigma Co. S.Louis, MA, USA) solüsyonundan 10 uL ilave edilmiştir. Bu solüsyon DNA interkalasyon yapmakta

ve DNA'yı UV ışık altında görünür kılmaktadır. Tank üzerine sölüsyonunun eklenmesinin ardından PCR-DNA molekülü 2 uL Loading DYE (2 orange G+4PCR ürünü) karıştırılarak jele yüklenmiştir. Jeldeki DNA, UV transiluminatöründe baz sayısı bilinen standart DNA markırı ile karşılıklı olarak yüklenip, Syngene İnGeneous jel kamera sistemi kullanılarak görüntülenmiştir. DNA saflığının ölçülmesi için, NanoDrop Spektrofotometre cihazında 260/280 nm dalga boyunda ölçüm yapıldı. Kontrolü tamamlanan DNA molekülleri, moleküler analizlere başlamak üzere +4 C'de saklanmıştır..

### 5.2.3 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

HNF1A geninin 631 amino asit kodlayan 10 eksonu için spesifik oligonükleotid primerler (NCBI Genbank NM\_001306179 RefSeqGene ) dizayn edilerek Invitrogen tarafından sentezlenmiş ve kuru olarak tarafımıza teslim edilmiştir.

Çizelge 5.1 HNF1A geni on eksonu için PCR amplifikasyonunda kullanılan primer listesi

| Ekson | Forward (5'→3')       | Revers (5'→3')         |
|-------|-----------------------|------------------------|
| 1     | AGTTTGGTTTGTGTCTGCCG  | GGGACTCAACTCAGAAGGGG   |
| 2     | ACAAGGTTCCAGCACCCAG   | TGTAATGGGGATGGTGAAGC   |
| 3     | AGAATCAAGGGCAAGGTCAG  | GGACAGCCTTTTACAGGACC   |
| 4     | AGGACAGGGTTCCTCTGAGC  | TGTCACTGGGACAGTCCTCC   |
| 5     | CTGTGGAGGCAGGGGAG     | CTCTTCCAGCTCCTGGATTC   |
| 6     | GTCTCAGCAG CTGGGGGCCC | CGATGACCAGGGTGGAGGCACC |
| 7     | GCAGGGGTGGGATATAACTG  | TCCCCTGCATCCATTGAC     |
| 8     | CTTTCCCCAGTCTTGAGGC   | GTGGGACCAACATGGAAGG    |
| 9     | GTCTTCACCT CAGACACTGA | CTGTGGGGCTGGCGCTGAGCCG |
| 10    | GTACCCCTAGGGACAGGCAG  | CTGCTGCCCTCATCACC      |

PCR kiti ve Platinyum Taq Polimeraz ve kiti de Invitrogen (Paisley,UK) marka kullanılmıştır. Bu kitler kullanılarak HNF1A geni her eksonu için ayrı- ayrı PCR amplifikasyonu( her hasta için 10 PCR) gerçekleştirilmiştir. PCR işlemi için toplamda 25 µl olacak şekilde; içerisinde; 1µl genomic DNA , PCR Enfancer Buffer içinde ve 2.5 mmol MgCl<sub>2</sub> içeren PCR solüsyonu ve her birinden 50 µmol/l dGTP,dATP, dTTP ve dCTP oligonukleotidler , 5 pmol forward ve reverse primer ve 1.0 U PlatinumTaq DNA polimeraz eklenerek karışım hazırlanmıştır. PCR karışımı Veriti Thermal Cycler (Applied Biosystems, CA,USA ) cihazında gradient programında( 56-62<sup>0</sup>C arası) amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir.

### **PCR Ürünlerinin Purifikasyonu**

Elde edilen PCR ürünleri, agaroz jel elektroforezinde kontrol edilerek pozitif PCR fragmanları Exo-SAP enzim karışımı (Amersham Life Science,UK) kullanarak purifiye edilmiştir. Saflaştırılmış PCR ürünleri yeniden agaroz jel elektroforezine tabi tutularak jelde görüntülenmiştir. Gerekli görüldüğü takdirde pürüfiye edilmiş PCR amplifikasyon ürünü Nanodrop Spektrofotometrede ölçülmüştür.

### **5.2.4 DNA Dizi Analizi**

Saflaştırılmış HNF1A PCR ürünleri BigDye Terminator v3.1 (Applied Biosystems , CA, U.S.A) kiti kullanılarak DNA dizileme öncesi nükleotidlerin floresan işaretlemesi için ikinci PCR analizine (Cycle-Sequencing PCR) alınmıştır. Bu PCR kitinin özelliği tüm PCR kimyasalları ile beraber, floresan boyalı ddNTP"ler ile Taq DNA Polimeraz enzimini de tek bir karışım halinde bulundurmasıdır. "Big Dye Ready Reaction Mix" olarak adlandırılan bu karışıma sadece primer ve temizlenmiş kalıp DNA eklenir ve PCR başlatılır. Bir amplifikasyon tüpü (20 µl) için reaksiyon karışımı içeriği aşağıdaki şekildedir.

- Kalıp PCR DNA 8.0 µl ,
- "Big Dye Ready Reaction Mix" 8.0 µl
- Primer (3.2pmol / µl) 1.0 µl( ileri ve ya geri primer)
- Distile su 3.0 µl

- Veriti Thermal Cycler cihazında kendi programında amplifikasyonu yapılmıştır.

Cycle-Sequencing PCR işleminden sonra elde edilecek olan PCR ürünlerinin, BigDyeXT kiti ((Applied Biosystems CA, U.S.A) kullanılarak ortamdaki fazla kimyasallar ve floresan boyadan saflaştırılması yapılmıştır. Bu aşama özellikle reaksiyona girmemiş floresan boyalı ddNTP'' lerin uzaklaştırılması açısından da çok önemlidir. İşlem uygun şekilde yapılamazsa kontaminant boyalar lazer tarafından okunacak ve analizin hassasiyetini bozacaktır. Saflaştırma sonrası ortamdan alkolün tamamen uzaklaştırılması gerekmektedir.

Presipite edilerek yeniden saflaştırılmış PCR ürünleri ABI 3130XL Genetic Analyser otomatik DNA sekans sistemine yüklenerek nukleotid dizileri okunmuştur. Bu DNA dizileri kapiller jel elektroforezi kullanılarak okunmuştur.

DNA dizileme sonucunda SeqScape 2.0 software programı kullanılarak c.DNA nükleotid değişimleri HNF1A geni için ( NCBI Reference Sequence: NM\_001306179) referans dizisine göre, aminoasit mutasyonları( NCBI Reference Sequence : NP\_001293108.1) protein veri bankası ile karşılaştırılarak elde edilmiştir.

Çizelge 5.2 HNF1A nükleotid dizisi

ATG GTT TCT AAA CTG AGC CAG CTG CAG ACG GAG CTC CTG GCG GCC 15  
 16 CTG CTC GAG TCA GGG CTG AGC AAA GAG GCA CTG ATC CAG GCA CTG 30  
 31 GGT GAG CCG GGG CCC TAC CTC CTG GCT GGA GAA GGC CCC CTG GAC 45  
 46 AAG GGG GAG TCC TGC GGC GGC GGT CGA GGG GAG CTG GCT GAG CTG 60  
 61 CCC AAT GGG CTG GGG GAG ACT CGG GGC TCC GAG GAC GAG ACG GAC 75  
 76 GAC GAT GGG GAA GAC TTC ACG CCA CCC ATC CTC AAA GAG CTG GAG 90  
 91 AAC CTC AGC CCT GAG GAG GCG GCC CAC CAG AAA GCC GTG GTG GAG 105  
 106 ACC CTT CTG CAG GAG GAC CCG TGG CGT GTG GCG AAG ATG GTC AAG 120  
 121 TCC TAC CTG CAG CAG CAC AAC ATC CCA CAG CGG GAG GTG GTC GAT 135  
 136 ACC ACT GGC CTC AAC CAG TCC CAC CTG TCC CAA CAC CTC AAC AAG 150  
 151 GGC ACT CCC ATG AAG ACG CAG AAG CGG GCC GCC CTG TAC ACC TGG 165  
 166 TAC GTC CGC AAG CAG CGA GAG GTG GCG CAG CAG TTC ACC CAT GCA 180  
 181 GGG CAG GGA GGG CTG ATT GAA GAG CCC ACA GGT GAT GAG CTA CCA 195  
 196 ACC AAG AAG GGG CGG AGG AAC CGT TTC AAG TGG GGC CCA GCA TCC 210  
 211 CAG CAG ATC CTG TTC CAG GCC TAT GAG AGG CAG AAG AAC CCT AGC 225  
 226 AAG GAG GAG CGA GAG ACG CTA GTG GAG GAG TGC AAT AGG GCG GAA 240  
 241 TGC ATC CAG AGA GGG GTG TCC CCA TCA CAG GCA CAG GGG CTG GGC 255  
 256 TCC AAC CTC GTC ACG GAG GTG CGT GTC TAC AAC TGG TTT GCC AAC 270  
 271 CGG CGC AAA GAA GAA GCC TTC CGG CAC AAG CTG GCC ATG GAC ACG 285  
 286 TAC AGC GGG CCC CCC CCA GGG CCA GGC CCG GGA CCT GCG CTG CCC 300  
 301 GCT CAC AGC TCC CCT GGC CTG CCT CCA CCT GCC CTC TCC CCC AGT 315  
 316 AAG GTC CAC GGT GTG CGC TAT GGA CAG CCT GCG ACC AGT GAG ACT 330  
 331 GCA GAA GTA CCC TCA AGC AGC GGC GGT CCC TTA GTG ACA GTG TCT 345  
 346 ACA CCC CTC CAC CAA GTG TCC CCC ACG GGC CTG GAG CCC AGC CAC 360  
 361 AGC CTG CTG AGT ACA GAA GCC AAG CTG GTC TCA GCA GCT GGG GGC 375  
 376 CCC CTC CCC CCT GTC AGC ACC CTG ACA GCA CTG CAC AGC TTG GAG 390  
 391 CAG ACA TCC CCA GGC CTC AAC CAG CAG CCC CAG AAC CTC ATC ATG 405  
 406 GCC TCA CTT CCT GGG GTC ATG ACC ATC GGG CCT GGT GAG CCT GCC 420  
 421 TCC CTG GGT CCT ACG TTC ACC AAC ACA GGT GCC TCC ACC CTG GTC 435  
 436 ATC GGC CTG GCC TCC ACG CAG GCA CAG AGT GTG CCG GTC ATC AAC 450  
 451 AGC ATG GGC AGC AGC CTG ACC ACC CTG CAG CCC GTC CAG TTC TCC 465  
 466 CAG CCG CTG CAC CCC TCC TAC CAG CAG CCG CTC ATG CCA CCT GTG 480  
 481 CAG AGC CAT GTG ACC CAG AGC CCC TTC ATG GCC ACC ATG GCT CAG 495  
 496 CTG CAG AGC CCC CAC GCC CTC TAC AGC CAC AAG CCC GAG GTG GCC 510  
 511 CAG TAC ACC CAC ACG GGC CTG CTC CCG CAG ACT ATG CTC ATC ACC 525  
 526 GAC ACC ACC AAC CTG AGC GCC CTG GCC AGC CTC ACG CCC ACC AAG 540  
 541 CAG GTC TTC ACC TCA GAC ACT GAG GCC TCC AGT GAG TCC GGG CTT 555  
 556 CAC ACG CCG GCA TCT CAG GCC ACC ACC CTC CAC GTC CCC AGC CAG 570  
 571 GAC CCT GCC GGC ATC CAG CAC CTG CAG CCG GCC CAC CGG CTC AGC 585  
 586 GCC AGC CCC ACA GTG TCC TCC AGC AGC CTG GTG CTG TAC CAG AGC 600  
 601 TCA GAC TCC AGC AAT GGC CAG AGC CAC CTG CTG CCA TCC AAC CAC 615  
 616 AGC GTC ATC GAG ACC TTC ATC TCC ACC CAG ATG GCC TCT TCC TCC 630  
 631 CAG TAA

## 6. SONUÇLAR

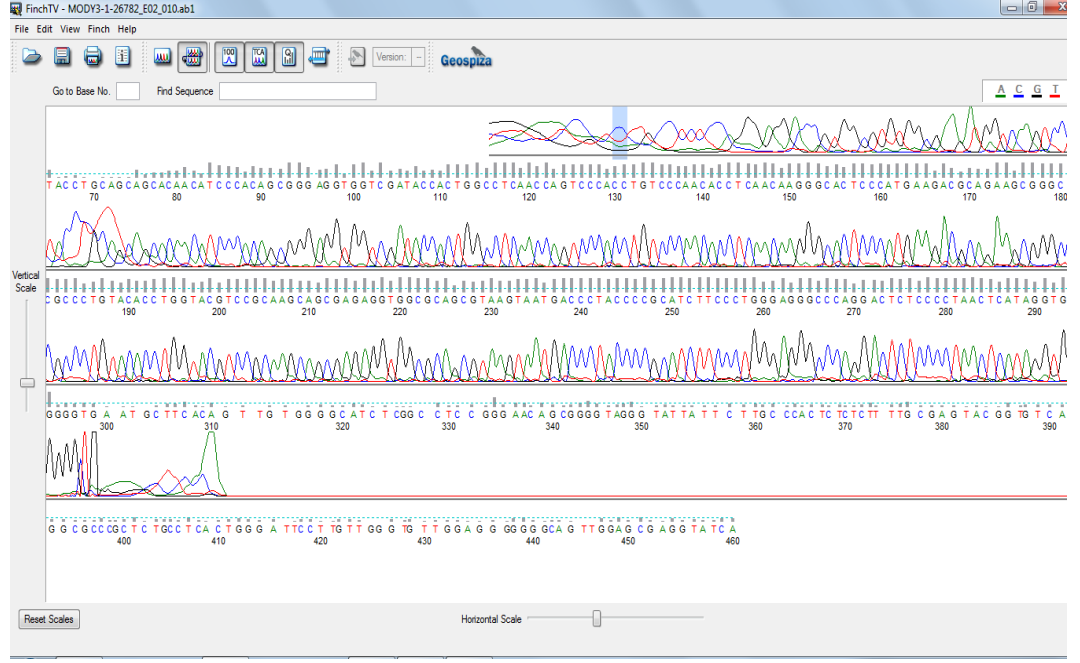
Çalışmada MODY3 tanısı koyulan 150 hasta araştırılmıştır. Gende bulunan 10 eksonda 15 farklı nükleotid değişimi tespit edilmiştir (Çizelge 6.1).

Çizelge 6.1 Nükleotid değişimlerinin eksonlara göre dağılımı.

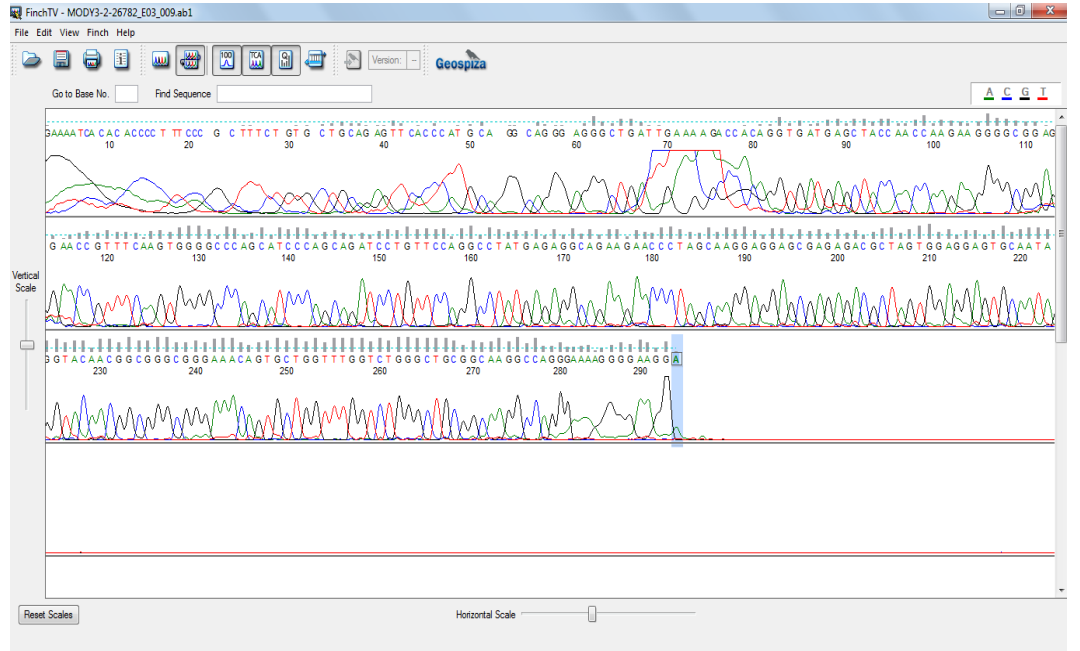
| Ekson    | Nükleotid Değişimi Sayısı |
|----------|---------------------------|
| 1.Ekson  | 3                         |
| 2.Ekson  | Yok                       |
| 3.Ekson  | 2                         |
| 4.Ekson  | 3                         |
| 5.Ekson  | Yok                       |
| 6.Ekson  | Yok                       |
| 7.Ekson  | 2                         |
| 8.Ekson  | 1                         |
| 9.Ekson  | 1                         |
| 10.Ekson | Yok                       |
| 3'UTR    | 3                         |
| Toplam   | 15                        |

Elde edilen veriler HGMD (“HUMAN GENETİC MUTATIONS DATABASE”) bilgi bankası ile karşılaştırılmıştır. HNF1A geninde bulunan on eksonda bu güne kadar yayınlanmamış ve HGMD veri tabanına girmeyen üç yeni nükleotid değişimi belirlenmiştir. 3'UTR bölgesinde üç farklı nükleotid değişimi belirlenmiştir. 7. Ve 8. Eksonların Splice bölgelerinde üç farklı nükleotid değişimi belirlenmiştir (Bkz. Ek 1 ve Ek 2).

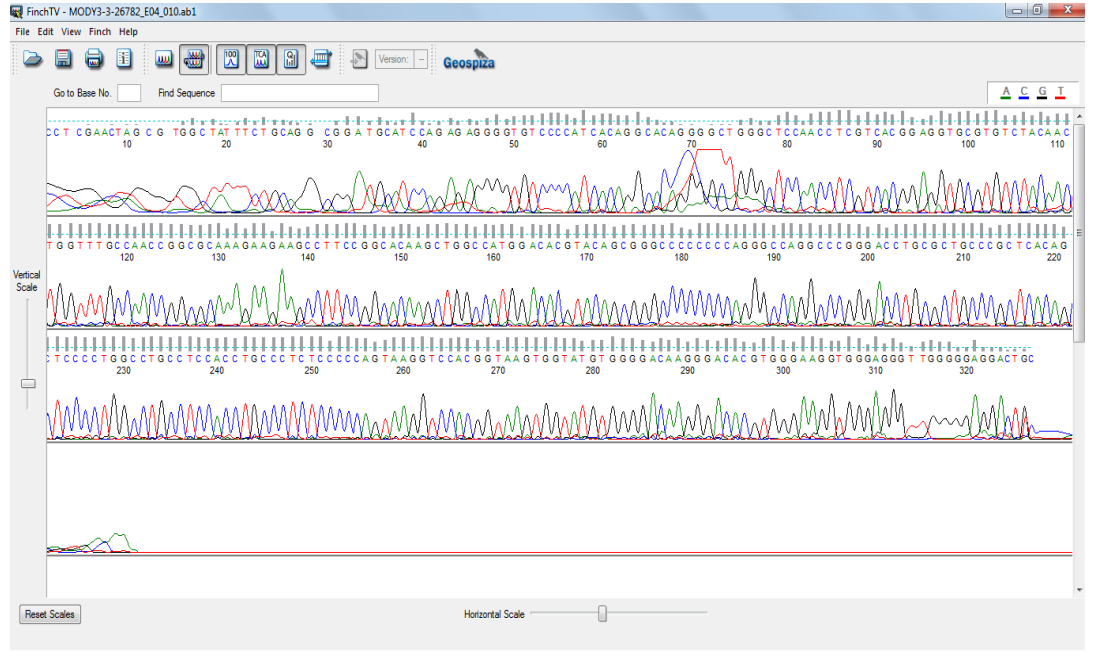
HNF1A geni DNA sekans analizi elektroforegramı bulguları aşağıda belirtilmiştir.



Şekil 6.1 1.Eksonun DNA sekans analizi elektroforegramı



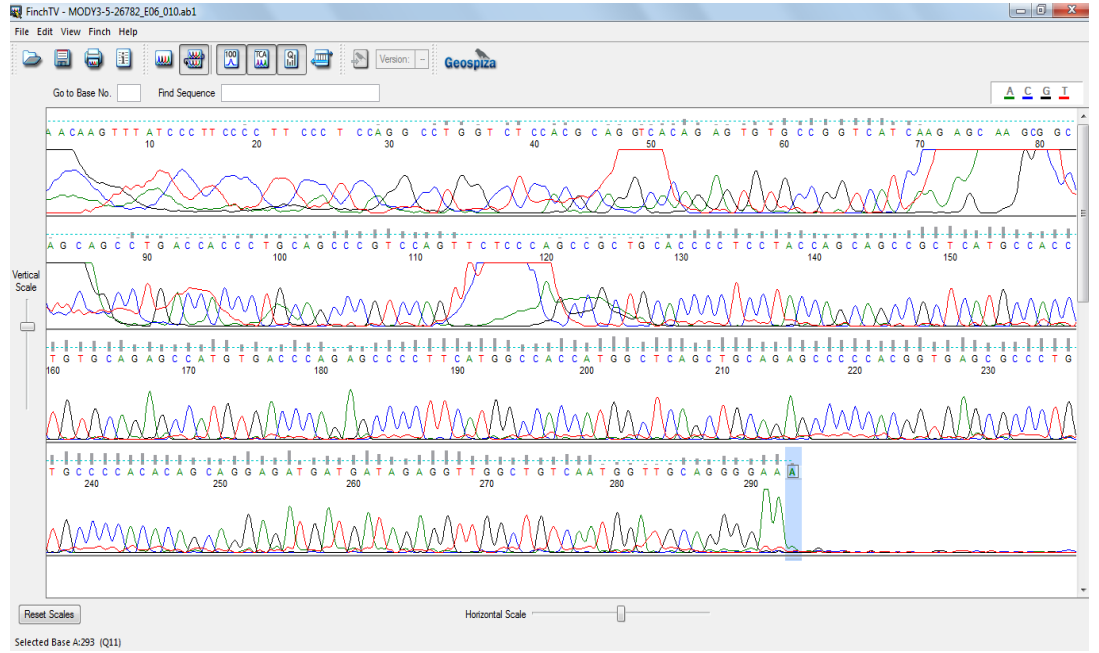
Şekil 6.2 2.Eksonun DNA sekans analizi elektroforegramı



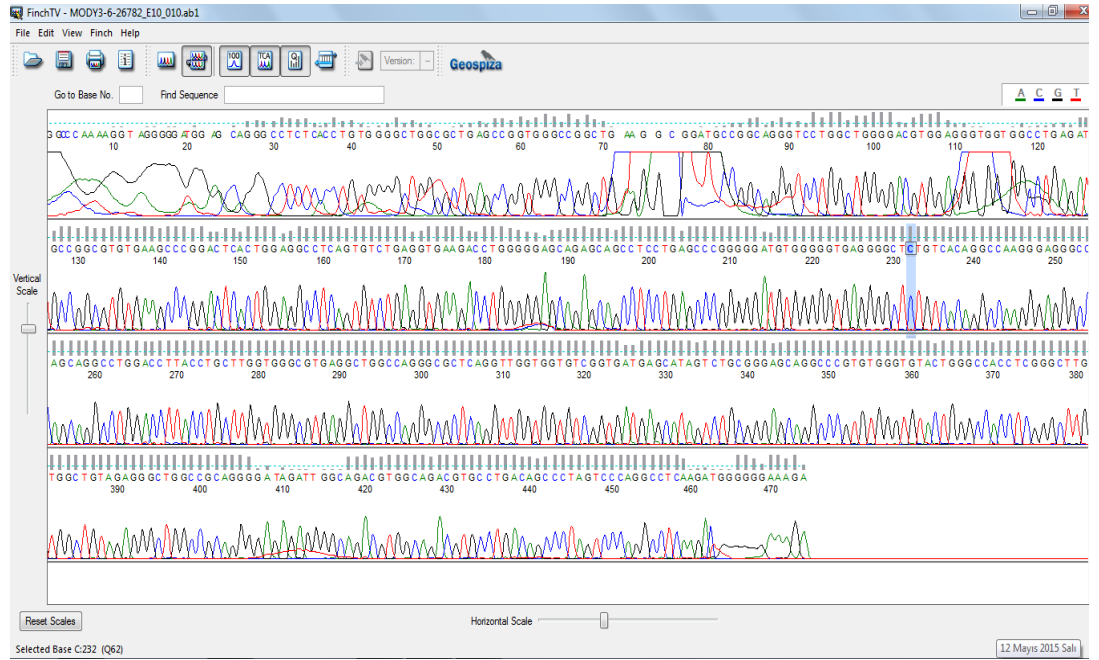
Şekil 6.3 3.Eksonun DNA sekans analizi elektroforegramı



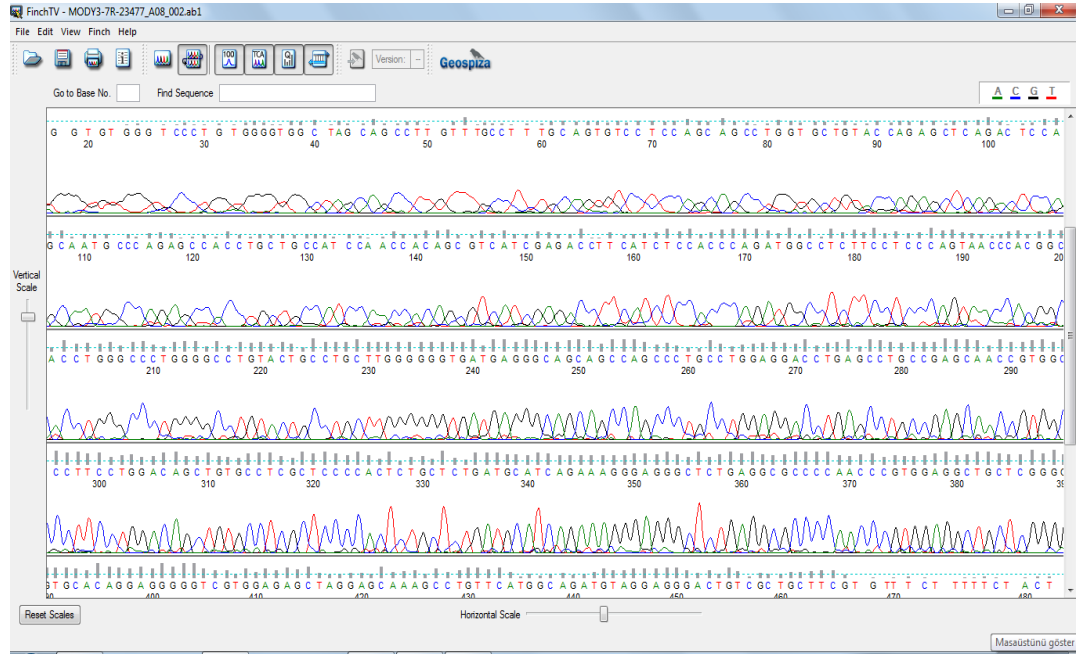
Şekil 6.4 4. Eksonun DNA sekans analizi elektroforegramı



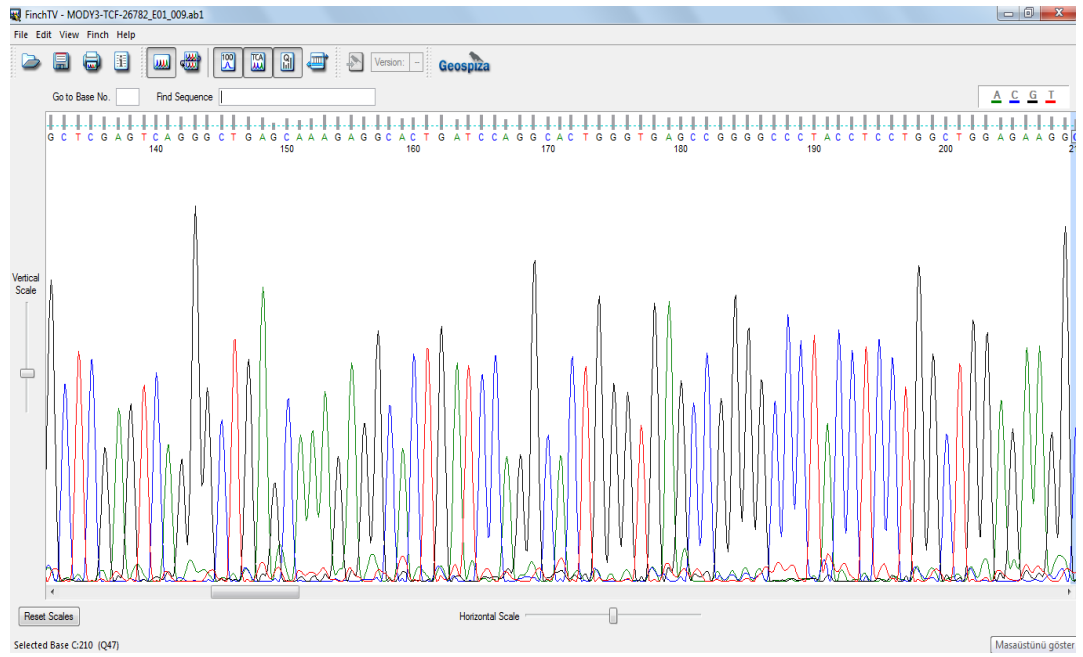
Şekil 6.5 5. Ve 6. Eksonların DNA sekans analizi elektroforegramı



Şekil 6.6 7. Eksonun DNA sekans analizi elektroforegramı

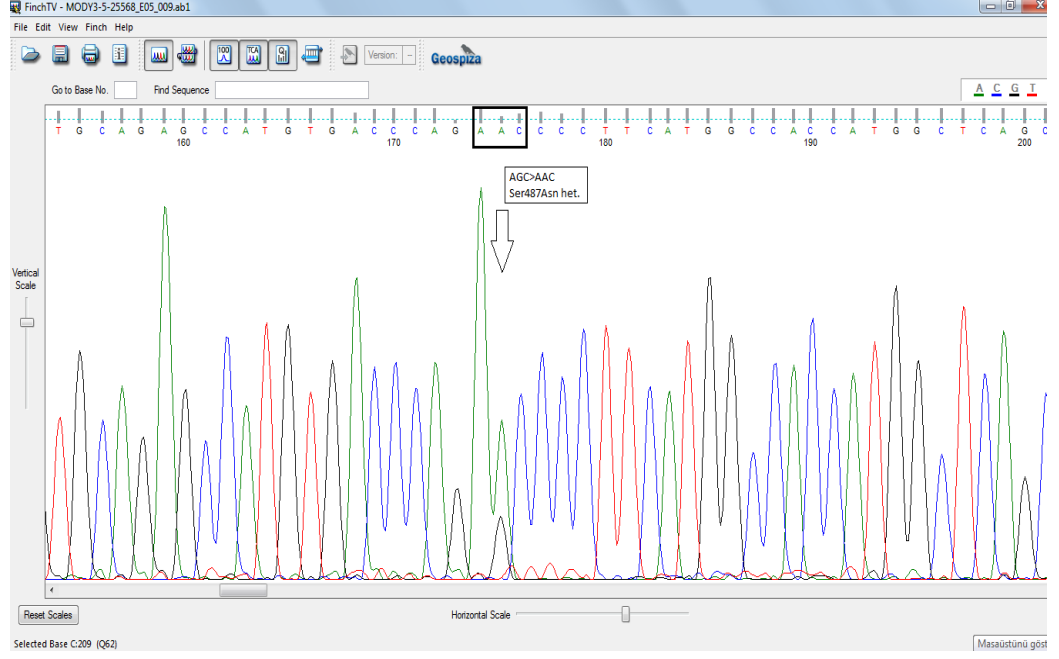


Şekil 6.7 8.ve 9. Eksonların DNA sekans analizi elektroforegramı

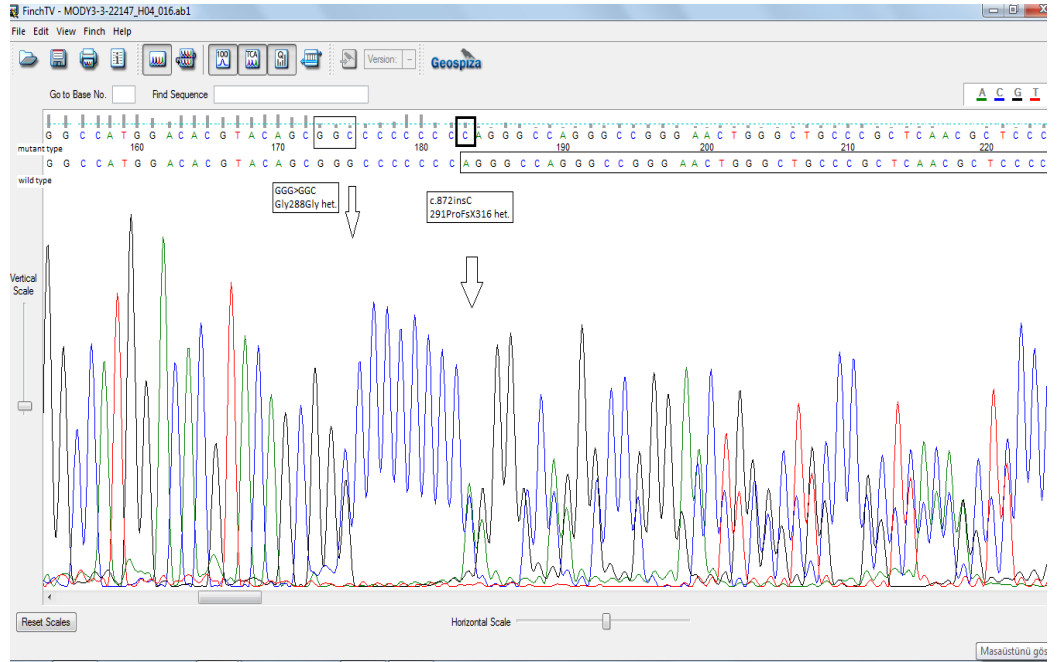


Şekil 6.8 10.Eksonun DNA sekans analizi elektroforegramı





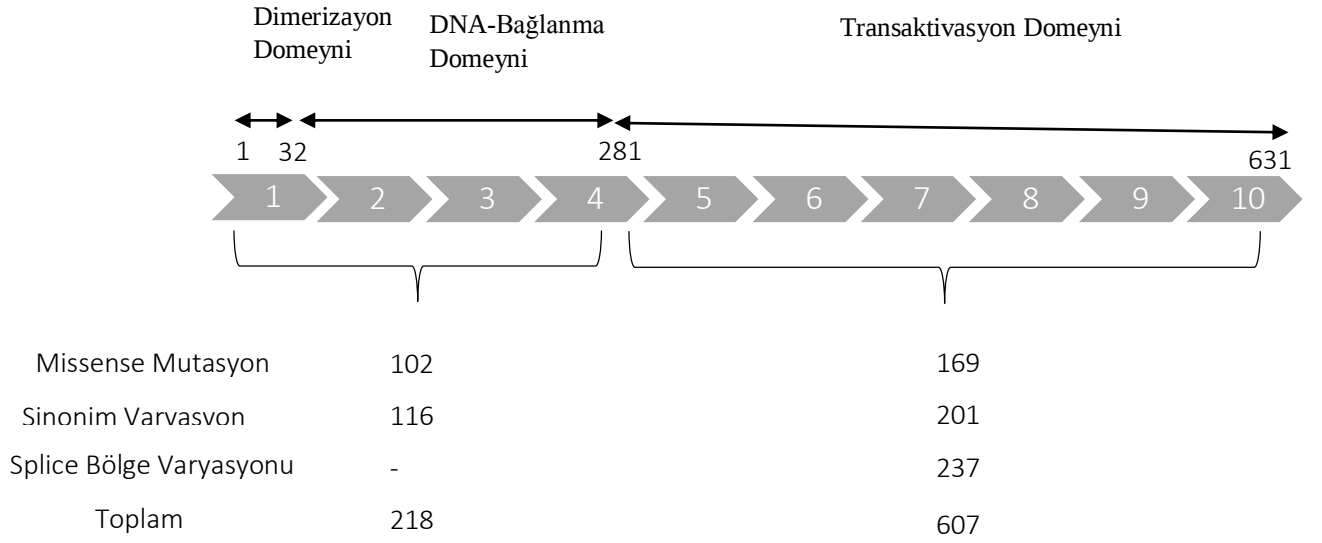
Şekil 6.11 Ser487Asn heterozigot mutasyonu (AGC>AAC) DNA sekans analizi elektroforegramı



Şekil 6.12 Gly288Gly heterozigot (GGG>GGC) ve c.872 insC (291 ProFsX316) heterozigot polimorfizleri DNA sekans analizi elektroforegramı.

HNF1A geni üç bölgeden (domain) oluşmaktadır ve oluşan nükleotid değişimleri ve mutasyonlar bulunduğu domaine göre önem arz etmektedir. Aşağıda belirtilen

tabloda (Çizelge 6.4) nükleotid değişimleri DNA'nın domeynlerine göre dağılımı gösterilmektedir. DNA ekson ve splice bölgelerinde elde edilen toplam 825 farklı nükleotid değişim verisi bulunmaktadır. Toplam %25'lik kısmı DNA dimerizasyon ve DNA bağlanma Domeyninde ve %75'lik kısım ise Transaktivasyon Domeyninde olduğu görülmektedir (Şekil 6.13).



Şekil. 6.13 Saptanan nükleotid değişimlerinin DNA domeynlerine göre dağılımı

## 6.1. HNF1A Geninde Saptanan Varyasyonlar

### 6.1.1 1.Ekson Leu17Leu Varyasyonu

Genotipik olarak “CTC>CTA” 51C>A nükleotid değişimi gözlenmiştir. Pürin baz olan “Adenin” primidin baz “Sitozin” ile yer değiştirmiştir. Sinonim aminoasit değişimi tanımlanmıştır. 113 hastada bu varyasyon tespit edilmiştir.

### 6.1.2 1. Ekson Ile27Leu Mutasyonu

#### HGMD ismi- CM001349

Genotipik olarak “ATC>CTC” 139A> C nükleotid değişimi gözlenmiştir. Pürin baz olan “Adenin” pridin baz “Sitozin” ile yer değiştirmiştir. HGMD verilerine göre bu değişim fenotipik olarak “İnsülin direnci” ile ilişkili olduğu kanıtlanmıştır. 98 hastada bu missense mutasyon tespit edilmiştir. Polar olmayan iki amino asit

“Isoleucine” ve “Leucine” yer değiştirmiştir. Dimerizasyon domeynin oluşan bu mutasyonun önemli bir etkiye neden olduğu düşünölmektedir.

### **6.1.3: 1. Ekson Gln28His Mutasyonu**

#### Yeni Mutasyondur.

Genotipik olarak “CAG>CAT” 144G>T nükleotid değişimi gözlenmiştir. Pürin baz olan “Guanin” primidin baz “Timin” ile yer değiştirmiştir. HGMD verilerinde bu mutasyona rastlanmamıştır. Bu yeni mutasyondur.. Sadece bir hastada bu missense mutasyon belirlenmiştir. Polar aminoasit olan “Glutamine” pozitif yüklü “Histidin” amino asiti ile yer değiştirmiştir. Bu mutasyon DNA dimerizasyon domeyninde oluşmuştur. Hastalığın şiddetine önemli etkisi olduğu düşünölmektedir.

### **6.1.4 3.Ekson His179His Varyasyonu**

Genotipik olarak “CAT>CTC” 536A>T nükleotid değişimi gözlenmiştir. Pürin baz olan “Adenin” primidin baz “Timin” ile yer değiştirmiştir. Sinonim aminoasit değişimi tanımlanmıştır. Sadece bir hastada bu varyasyon belirlenmiştir.

### **6.1.5 3.Ekson Thr231Thr Varyasyonu**

Genotipik olarak “ACG>ACC” 693G>C nükleotid değişimi gözlenmiştir. Pürin baz olan “Guanin” pridin baz “Sitozin” ile yer değiştirmiştir. Sinonim aminoasit değişimi tanımlanmıştır. İki farklı hastada bu varyasyon belirlenmiştir.

### **6.1.6 4.Ekson Gly288Gly Varyasyonu**

Genotipik olarak “GGG>GGC” 864G>C nükleotid değişimi gözlenmiştir. Pürin baz olan “Guanin” pridin baz “Sitozin” ile yer değiştirmiştir. Sinonim aminoasit değişimi tanımlanmıştır. 57 farklı hastada bu varyasyon belirlenmiştir.

### **6.1.7 4.Ekson Pro290Arg Mutasyonu**

#### Yeni Mutasyondur

Genotipik olarak “CCC>CGC” 869C>G nükleotid değişimi gözlenmiştir. Primidin baz olan “Sitozin” pürin baz “Guanin” ile yer değiştirmiştir. HGMD

verilerinde bu mutasyona rastlanmamıştır. Bu yeni mutasyondur. Sadece bir hastada bu missense mutasyon belirlenmiştir. Polar amino asit olan “Prolin” pozitif yüklü “Arginine” ile yer değiştirmiştir. Transaktivasyon domeyninde oluşan bu mutasyon hastalığın şiddetine önemli ölçüde etki ettiği düşünülmektedir.

#### **6.1.8 4.Ekson Arg272Gly Mutasyonu**

##### Yeni Mutasyondur

Genotipik olarak “CGC>GGC” 814C>G nükleotid değişimi gözlenmiştir. Primidin baz olan “Sitozin” ile pürin baz “Guanin” yer değiştirmiştir. HGMD verilerine göre bu değişim fenotipik olarak “Tip 2 diyabet” ile ilişkili olduğu kanıtlanmıştır. Üç farklı hastada bu missense mutasyon belirlenmiştir. Polar olan “Arginine” amino asiti polar olmayan “Glycine” ile yer değiştirmiştir. Bu mutasyon DNA transaktivasyon bölgesinde oluşmuştur. Bu mutasyon hastalığın şiddetine önemli olduğu görülmektedir.

#### **6.1.9 7.Ekson Leu459Leu Varyasyonu**

Genotipik olarak “CTG>CTA” 1377G>A nükleotid değişimi gözlenmiştir. Pürin bazlar olan “Guanin” “Adenin” ile yer değiştirmiştir. Sinonim aminoasit değişimi tanımlanmıştır. 103 farklı hastada bu varyasyon belirlenmiştir.

#### **6.1.10 7.Ekson Ser487Asn Mutasyonu**

##### HGMD ismi

##### CM067474

Genotipik olarak “AGC>AAC” 1460G>A nükleotid değişimi gözlenmiştir. Purin bazlar olan “Guanin” “Adenin” ile yer değiştirmiştir. HGMD verilerine göre bu değişim fenotipik olarak “Kardiovasküler Hastalık Riski” ile ilişkili olduğu kanıtlanmıştır. 107 farklı hastada bu missense mutasyon belirlenmiştir. Polar amino asit olan “Serine” pozitif yüklü “Asparagine” amino asiti ile yer değiştirmiştir. Transaktivasyon domeyninde oluşan bu mutasyon hastalığın şiddetine etkisinin önemli olduğu düşünülmektedir.

#### **6.1.11 7.Ekson-intronda- IVS7+8G>A Varyasyonu**

##### Yeni Varyasyondur

Splice bölge varyasyonudur. Purin bazlar olan “Guanin” ile “Adenin” yer değiştirmiştir. HGMD veri tabanında bu varyasyon belirlenmemiştir. 111 farklı hastada bu varyasyon belirlenmiştir.

#### **6.1.12 8.Ekson- intron IVS8+29T>C Varyasyonu**

Yeni Varyasyondur

Splice bölge varyasyonudur. Primidin bazlar olan “Timin” ile “Sitozin” yer değiştirmiştir. HGMD veri tabanında bu varyasyon belirlenmemiştir. 125 farklı hastada bu varyasyonu belirlenmiştir.

#### **6.1.13 8.Ekson Thr515Thr Varyasyonu**

Genotipik olarak “ACG>ACT” 1545G>T nükleotid değişimi gözlenmiştir. Pürin baz olan “Guanin” primidin baz olan “Timin” ile yer değiştirmiştir. Sinonim aminoasit değişimi tanımlanmıştır. 41 hastada bu varyasyon belirlenmiştir.

#### **6.1.14 8.Ekson IVS8 +75G>A Varyasyonu**

Yeni Varyasyondur

Splice bölge varyasyonu. Primidin bazlar olan “Timin” ile “Sitozin” yer değiştirmiştir. HGMD veri tabanında bu varyasyonu belirlenmemiştir. Sadece bir hastada bu varyasyon belirlenmiştir.

#### **6.1.15 9.Ekson Gly574Ser Mutasyon**

HGMD ismi

CM020516

Genotipik olarak “GGC-AAC” 1721G>A nükleotid değişimi gözlenmiştir. Purin bazlardan “Guanin” “Adenin” ile yer değiştirmiştir. HGMD verilerine göre bu değişim fenotipik olarak Tip 2 diyabete neden olduğu gösterilmiştir. 61 hastada bu missense mutasyon belirlenmiştir. Polar olmayan “Glycine” polar amino asit “Serine” ile yer değiştirmiştir. Transaktivasyon domeyninde oluşan bu mutasyon, protein etki mekanizmasını önemli ölçüde etkilemiştir.

#### **6.1.16 3’UTR+438G>A Varyasyonu**

Yeni Varyasyondur

3'UTR bölge varyasyonudur. Purin bazlar olan “Guanin” ile “Adenin” yer değiştirmiştir. HGMD veri tabanında bu varyasyon belirlenmemiştir. 91 hastada bu varyasyon belirlenmiştir.

#### **6.1.17 3'UTR+197G>T Varyasyonu**

Yeni Varyasyondur.

3'UTR bölge varyasyonudur. Purin baz olan “Guanin” pirimidin baz olan “Timin” ile yer değiştirmiştir. HGMD veri tabanında bu varyasyon belirlenmemiştir. 78 hastada bu varyasyon belirlenmiştir.

#### **6.1.18 3'UTR+603G>A Varyasyonu**

Yeni Varyasyondur

3'UTR bölge varyasyonudur. Purin bazlar olan “Guanin” “Adenin” ile yer değiştirmiştir. HGMD veri tabanında bu varyasyonu belirlenmemiştir. Sadece bir hastada bu varyasyon belirlenmiştir.

## 7. TARTIŞMA

Tip 3 MODY sendromunun klinik gidişatı özellikle her ailede oldukça farklı görülmektedir. HNF1A mutasyon taşıyıcı norglisemik olabilirken, benzer yaştaki diğer kardeşi hiperglisemik olduğu görülebilmektedir (Bellanne-Chantelot et al, 2007). Diyagnozda semptomlar oldukça farklılık gösterebilmektedir. Bazı hastalarda metabolik yetersizlikler görölse de, diğerleri sistematik tarama ile belirlenmektedir. Hastalığı şiddeti ve insülin sekresyonu eksikliği değışiklik göstermektedir. Hastaların üçte biri 15 yıllık diyabet sürecinden sonra insülin uygulamasına gerek duyarken, diğerleri ise diyet ve oral hipoglisemik ajanlar ile kontrol edilmektedir. Diğer monogenik hastalıklar gibi, bu fenotipik değışkenlikler çevresel ve/veya diğer genetik faktörlerle açıklanmaktadır.

HNF1A mutasyonun moleküler karakteristiğı hastalığın şiddetinde önemli rol oynamaktadır. HNF1A geninde yaklaşık 200 farklı mutasyon belirlenmiştir (Bkz. Ek 3) (Ellard, et al, 2006). HNF1A üç fonksiyonel domeynden oluşmaktadır. Doku modellerine ve farklı transkripsiyonel özelliklere göre alternatif “splicing” ile oluşan üç farklı izoform mevcuttur. Araştırmalara göre HNF1A mutasyon spektrumunun diyabetin başlama yaşı ile ilgili korelasyonunun bulunmadığı görölmüştür.

1999 dan önce 30 dan fazla mutasyon HNF1A geninde belirlenmiştir. HNF1A geni promotor HNF-4 $\alpha$  proteini etkileşimde bulunur ve bu bölgede oluşan mutasyonlar MODY3 hastalığına neden olmaktadır. Yazarlar promotor bölgedeki oluşan mutasyonlarında da, anlamlı bölge ve intronik bölge gibi mutasyon taraması yapılması gerektiğini belirtmişlerdir. Japonya da araştırmacılar %5.5 (3/55) oranda tip 1 diyabet görülen hastada, HNF1A mutasyon bulgusuna rastlanmıştır (Winter, 2000) .

Kaisaki ve ark. Belirtiklerine göre, ekzon 4 mutasyonel hotspot bölge olup, poly-C (sitozin) tekrar bölgesi içermektedir.

Yamagata ve ark. Gösterdiği kanıtlarda P291fsinsC mutasyonu oluştuğunda, oluşan eksik HNF-1 $\alpha$  proteini ile normal HNF-1 $\alpha$  proteini dimerizasyonu oluşur. Yazarların hipotezine göre HNF-1 $\alpha$  fonsiyonel DNA ile etkileşime girmesi için doğru bir biçimde dimerize olması gerektiğinden, hatalı HNF-1 $\alpha$  HNF-1 $\alpha$  ile dimerizasyon oluşturması etkili olmamaktadır ve oluşan bu mutasyon dominant

tersinir etki yapmaktadır. Örneğin HNF-1 $\alpha$  bir mutasyonlu kopyası HNF-1 $\alpha$ 'nın normal fonksiyonunu bozucu etkide bulunmaktadır. Diğer mutasyonlar da farklı yollarla HNF-1 $\alpha$  fonksiyonu bozmaktadır.

MODY için en sık tanımlanmış etiyolojiler HNF1A ve GCK (Glikokinaz) mutasyonlarıdır. Birleşik Krallıkta MODY ailelerinde %73 (11/15) oranında HNF1A mutasyonu belirlenmiştir (Frayling et al., 1997). Ayrıca, erişkinlerde görülen tip 2 diyabet hastalarında (40 yaşından önce) % 6 (2/32) oranında HNF1A mutasyonu görülmüştür. Danimarka'da MODY ailelerinde %56 (5/9) oranında HNF1A mutasyonu belirlenmiştir (Hansen, et al, 1997). Kuzey Amerika ve Finlandiya MODY ailelerinde %21 oranında (10/47) HNF1A mutasyonları belirlenmiştir (Glucksman et al, 1997). Almanya'da 25 erişkinlerde görülen diyabet tip 2 (35 yaşından önce) yapılan araştırmada, %36 (9/25) HNF1A mutasyonu bulunmuştur (Kaisaki, 1997). Brezilyalı ve İspanyol MODY hastalarında %30 (7/23) oranında HNF1A mutasyonu belirlenmiştir (Boutin et al, 1997). İki obez siyah Afrikalı akut diyabet başlangıçlı olan hastalardan sadece birinde HNF1A mutasyonu belirlenmiştir. HNF1A geninde oluşan mutasyonun geç dönemde oluşan diyabet ve obezite ile ilişkili diyabetin oluşmasında düzenli olarak katkıda bulunduğu dair kanıt bulunamamıştır. 600 Fransız kardeş çiftlerde yapılan araştırmada tip2 diyabetler 12q. kromozomun bir ilişkisi bulunamamıştır (Lesage et al, 1995). Geç dönemde başlayan tip 2 diyabet 110 Japon hastadan sadece birinde HNF1A mutasyonu belirlenmiştir (Iwasaki et al, 1997). Bununla birlikte, erişkin başlangıçlı tip 2 diyabet hastalarda % 8 (7/83) oranında HNF1A mutasyonu bulunmuştur. 2 farklı aileden 62 tip 2 diyabet hastasında yapılan çalışmada, tip 2 diyabetin HNF1A geni ile ilişkili olduğu görülmüştür. Her iki ailede yeni mutasyonlar belirlenmiştir (Elbein et al, 1998).

Başka bir araştırmada 356 farklı hastada yüksek allelik heterojenite görülmüştür. Bu araştırmada, 169 mutasyon ve bu mutasyonların 118'i daha önce tanımlanmamış olan mutasyonlar olduğu belirtilmiştir. Yüksek oranda (%82) yeni mutasyon belirlenmiştir (Bkz. Ek 4) (Bellanne-Chantelot et al, 2007).

DNA'nın fonksiyonel domainlerinde önemli oranda mutasyon tiplerinde farklılık görülmüştür. DNA dimerizasyon domaininde %74 oranında missense mutasyon ancak transaktivasyon bölgesinde anlamsız (%62) mutasyon ağırlıkta olduğu

görülmüştür. Benzer bir dağılım daha önceki araştırmalarda da vurgulanmıştır. Bazı missense mutasyonların hafif fonksiyonel sonuçları olabilmekte ve klinik ekspresyonu etkilenen domeynin fonksiyonel önemi ile ilgili olduğu görülmektedir.

HGMD veri bankasında HNF1A gen düzeyinde belirlenen mutasyonlar aşağıdaki çizelgelerde belirtilmiştir. (Bkz. Ek 5, Ek 6 ve Ek 7). Bu veri bankasında missense mutasyonların, insersiyon (ekleme) ve delesyon (silinme) mutasyonların çizelgelerinde günümüze dek en yeni mutasyonların listesi bulunmaktadır. Bizim elde ettiğimiz verilerin bu veri bankası ile kıyaslanması sonucu yeni mutasyonlar bulunmuştur. Ayrıca, her toplumda HNF1A geninde oluşan mutasyon sıklığı ve bölgesi farklılık göstermektedir.

## 8. ÖNERİLER

Bu çalışma sonucunda elde edilen verilere HNF1A geni ile MODY tip 3 sendromunun ilişkisi ortaya konulmuştur. Farklı bölgelerde ve domeynlerde oluşan varyasyonların protein fonksiyonuna farklı etki etmektedir. sonraki araştırmalarda, HNF1A geni promotor bölgesinin araştırılması önemlidir. Bu gende oluşan mutasyonların erken dönemde teşhisi çok önemlidir. Erken teşhis ile hastalık erken dönemde kontrol altına alınarak, hayat kalitesinin etki etmesi önlenmelidir.

## YORUM

1. Toplam 10 ekzonu bulunan HNF1A geni altı ekzonunda toplam 15 farklı nükleotid değişimi belirlenmiştir. Splice ve 3'UTR bölgelerinin her birinde ise üç farklı nükleotid değişimi belirlenmiştir.
2. Ekson bölgelerinde belirlenen 15 nükleotid değişimi DNA domeyni bölgelerine göre farklılık göstermiştir. Dimerizasyon domeyninde 3 nükleotid değişimi, DNA-Bağlanma domeyninde 2 nükleotid değişimi ve transaktivasyon domeyninde ise 10 farklı nükleotid değişimi belirlenmiştir.
3. "HGMD" verileri kullanılarak belirlediğimiz nükleotid değişimlerinin 3 farklı hastalıkla fenotipik ilişkisi ortaya konulmuştur. Ile27Leu mutasyonu insülin direnci ile, Gln28His varyasyonu MODY3 hastalığı ile ve Gln574Ser mutasyonu ise tip 2 Diyabet hastalığı ile ilişkili olduğu belirlenmiştir.
4. Araştırmamız sonucunda "HGMD" veri bankasında bulunmayan üç yeni nükleotid değişimi saptanmıştır. Bunlar sırası ile Arg272Gly, Pro290His ve Ser487His mutasyondur.
5. Çalışmalarımızda altı farklı mutasyon ve 9 sinonim nükleotid değişimi belirlenmiştir.

## 9. KAYNAKLAR

**Atabek, E., M., Kurtoğlu, S.,** 2004, Gençlerin Erişkin Başlangıçlı Diabeti, T Klin Tıp Bilimleri , 24:167-172s.

**Arenas, F., Hervias, I., Uriz, M., Joplin, R., Prieto, J., Medina, J.,F.,** 2008, Combination of ursodeoxycholic acid and glucocorticoids upregulates the AE2 alternate promoter in human liver cells. The Journal of clinical investigation Jan 10, 78p

**Ban, N., Yamada, Y., Someya, Y., Miyawaki, K., Ihara, Y., Hosokawa, M., Toyokuni, S., Tsuda, K., Seino, Y.,** 2002, Hepatocyte nuclear factor-1alpha recruits the transcriptional co-activator p300 on the GLUT2 gene promoter. Diabetes May;51(5):1409-18pp.

**Barford., D., Das., A.,K., Egloff., M.,P.,** 1998, The Structure and mechanism of protein phosphatases: Insights into Catalysis and Regulation *Annu Rev Biophys Biomol Struct.* Vol.27: 133-164pp.

**Bellanne-Chantelot,C., Carette, C., Riveline,J., Valero, R., Gautier, J., Larger, E., Reznik,Y., Ducluzeau, P., Sola, A., Hartemann-Heurtier, A., Lecomte, P., Chaillous, L., Laloi-Michelin, M., Wilhem, J., Cuny, P.,Duron, F., Guerci,B., Jeandidier, N., Mosnier-Pudar, H., Assayag, M., Dubois-Laforgue, D., Velho, G., Timsit, J.,** 2007, The Type and the Position of HNF1A Mutation Modulate Age at Diagnosis of Diabetes in Patients with Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY)-3, <http://diabetes.diabetesjournals.org> on 14 November , DOI: 10.2337/db07-0859.

**Bell, G.,I.,** 1991, Molecular defects in diabetes mellitus, Diabetes Apr: 40 (4): 413–422pp.

**Ben-Shushan, E., Marshak, S., Shoshkes, M., Cerasi, E., Melloul, D.,** 2001, A pancreatic beta -cell-specific enhancer in the human PDX-1 gene is regulated by hepatocyte nuclear factor 3beta (HNF-3beta ), HNF-1alpha, and SPs transcription factors. The Journal of biological chemistry May 18;276(20):17533-40pp.

**Bennet, P.,H., Knowler,W.,C.,** 2005, Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and Glucose Homeostasis. In “Joslin Diabetes Mellitus”. (eds) Kahn CR, Weir GC, King GL, Jacobson AM, Moses AC, Smith RJ. 14th ed, Philadelphia, Lippincott Williams &Wilkins; 331-339pp.

**Boutin, P., Chevre, J.,C., Hami, E.,H.,** 1997, An automated fluorescent single-strand conformation polymorphism technique for screening mutations in the hepatocyte nuclear factor-1a gene (maturity-onset diabetes of the young), *Diabetes*, 46: 2108–2109pp.

**Chang., C., Stewart., R.,C.,** 1998, The Two-Component System. *Plant Physiol*, 117: 723-731pp,

**Chung, I., Bresnick, E.,** 1995, Regulation of the constitutive expression of the human CYP1A2 gene: cis elements and their interactions with proteins, *Molecular pharmacology*, Apr;47(4):677-85pp.

**Cluck, M., Murphy, L., O., Olson, J., Knezetic, J., A., Adrian, T., E.,** 2003, Amylin gene expression mediated by cAMP/PKA and transcription factors HNF-1 and NFY. *Molecular and cellular endocrinology*, 210(1-2):63-75pp.

**Courtois, G., Baumhueter, S., Crabtree, G.,R., Proc Natl Acad Sci U S A.,** 1988, Purified hepatocyte nuclear factor 1 interacts with a family of hepatocyte-specific promoters, *Source Department of Pathology, Stanford University School of Medicine*, Nov;85(21):7937-41pp.

**Cozzon, A., J.,** 1988, Protein phosphorylation in prokaryotes *Ann. Rev. Microbiol*, 42:97-125pp.

**Elbein, S.,C., Teng, K., Yount, P.,** 1998, Linkage and molecular scanning analyses of MODY3/hepatocyte nuclear factor-1a gene in typical familial type 2 diabetes: evidence for novel mutations in exons 8 and 10, *J Clin Endocrinol Metab* ,83: 2059–2065pp.

**Ellard, S., Colclough, K.,** 2006, Mutation in the Genes Encoding the Transcription Factors Hepatocyte Nuclear Factor 1 Alpha (HNF1A) and 4 Alpha (HNF4A) in Maturity-Onset Diabetes of the Young, *Human Mutation* 27(9), 854-869pp.

**Ensembl Genome Browser,**

[http://www.ensembl.org/Human/Search/Results?q=hnf1a;site=ensembl;facet\\_spec ies=Human](http://www.ensembl.org/Human/Search/Results?q=hnf1a;site=ensembl;facet_spec ies=Human) (Erişim tarihi: 4 Mart 2014)

- Fajans, S.,S., Conn, J.,W.,** 1960, Tolbutamide-induced improvement in carbohydrate tolerance of young people with mild diabetes mellitus. *Diabetes* , 9: 83–88pp.
- Fajans, S.,S.,** 1987, MODY: a model for understanding the pathogeneses and natural history of type II diabetes., *Horm Metab Res* ;19:591-9pp.
- Faustino, N.,A., Cooper, T.,A.,** 2003, Pre-mRNA splicing and human disease, *Genes Dev*; 17:419-37pp.
- Frayling, T.,M., Bulman, M.,P., Ellard, S.,** 1997, Mutations in the hepatocyte nuclear factor-1a gene are a common cause of maturity-onset diabetes of the young in the U.K. *Diabetes* , 46 (4): 720–725pp.
- Glucksman, M.,A., Lehto, M., Tayber., O.,** 1997, Novel mutations and a mutational hotspot in the MODY3 gene, *Diabetes*, 46: 1081–1086pp.
- Granner, D.,K., O'brien, R.,M.,** 1992, Molecular physiology and genetics of NIDDM., Importance of metabolic staging., *Diabetes Care* Mar: 15 (3): 369–395pp.
- Gresh, L., Fischer, E., Reimann, A., Tanguy, M., Garbay, S., Shao, X., Hiesberger., T., Fiette, L., Igarashi, P., Yaniv, M., Pontoglio, M.,** 2004, A transcriptional network in polycystic kidney disease. *The EMBO journal* Apr 7;23(7):1657-68pp.
- Guyton, A., C., Hall, J., E.,** 1998, *Tıbbi Fizyoloji*, 9. Basım, Nobel Tıp Kitabevi, Tübitak Yayınları, Sayı 363s.
- Hansen, T., Eiberg, H., Rouard, M.,** 1997, Novel MODY3 mutations in the hepatocyte nuclear factor-1a gene, *Diabetes* ,46: 726–730pp.
- Hu, C., Perlmutter, D.,H.,** 1999, Regulation of alpha1-antitrypsin gene expression in human intestinal epithelial cell line caco-2 by HNF-1alpha and HNF-4. *The American journal of physiology* May;276: 94pp.
- Kaisaki, P.,J., Menzel, S., Lander, T.,** 1997, Mutations in the hepatocyte nuclear factor-1a gene in MODY and early-onset NIDDM, *Diabetes*, 46 (3): 528–535pp.
- Ktistaki, E., Talianidis, I.,** 1997, Modulation of hepatic gene expression by hepatocyte nuclear factor, *Source Institute of Molecular Biology and Biotechnology, Foundation for Research and Technology-Hellas, Science* Jul 4; 12p.

**Kubista, M., Andrade, J.M., Bentsson, M., Forootan, A., Jonak, J. and Lind, K.,** 2006, The Real-Time PCR, *Mol Aspects Med*, 27: 95-125pp.

**Langmann, T., Porsch-Ozcurumez, M., Heimerl, S., Probst, M., Moehle, C., Taher, M., Borsukova, H., Kielar, D., Kaminski, W.,E., Dittrich-Wengenroth, E., Schmitz, G.,** 2002, Identification of sterol-independent regulatory elements in the human ATP-binding cassette transporter A1 promoter: role of Sp1/3, E-box binding factors, and an oncostatin M-responsive element. *The Journal of biological chemistry* Apr 26;277(17):14443-50p.

**Latchman, D.,** 2002, Posttranscriptional regulation. In: Latchman OS (ed). *Gene regulation: a eukaryotic perspectives*, 4th ed, Cheltenham: Nelson Thornes Ltd, 9pp.

**Lesage, S., Hani, E.,H., Philippi, A.,** 1995, Linkage analysis of the MODY3 locus on chromosome 12q with late-onset NIDDM, *Diabetes*, 44: 1243–1247p.

**Martin, M.,G., Wang, J., Solorzano-Vargas, R.,S., Lam, J.,T., Turk, E., Wright, E.,M.,** 2000, Regulation of the human Na(+)-glucose cotransporter gene, SGLT1, by HNF-1 and Sp1. *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology*. Apr;278(4):G591-603p.

**McTaggart, J.,S., Clark, R.,H., Ashcroft, F.,M.,** 2010, The role of the KATP channel in glucose homeostasis in health and disease: more than meets the islet, *J Physiol*; 588(17): 32019p.

**Mohan, V., Jaydip, R., Deepa, R.,** 2007, Type 2 diabetes in Asian Indian youth. *Pediatric Diabetes*, ;8(Suppl 9):28-34pp.

**Mouchel,N., Henstra, S.,A., McCarthy, V.,A., Williams., S.,H., Phylactides, M., Harris., A.,** 2004, HNF1alpha is involved in tissue-specific regulation of CFTR gene expression. *The Biochemical journal* Mar 15;378 (Pt 3):909-18p.

**National Center for Biotechnology Information (NCBI),**  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/6927> (Erişim tarihi, 23 Ekim, 2014).

**Odom, D.,T., Zizlsperger, N., Gordon, D.,B., Bell, G.,W., Rinaldi, N.,J., Murray., H.,L., Volkert, T.,L., Schreiber, J., Rolfe, P.,A., Gifford, D.,K., Fraenkel, E., Bell, G.,I., Young, R.,A.,** 2004, Control of pancreas and liver gene expression by HNF transcription factors. *Science* Feb 27;303(5662):1378-81p.

**Olgun., N, Eti Aslan, F., Coşansu, G., Çelik S.,** 2010, Diabetes mellitus. “Dahili ve Cerrahi Hastalıklarda Bakım” içinde. (ed) Karadakovan A, Aslan FE. Adana, Nobel Tıp Kitabevi; syf 829-864.

**Pontoglio, M.,** 2000, Hepatocyte nuclear factor 1, a transcription factor at the crossroads of glucose homeostasis. Journal of the American Society of Nephrology ,11 Suppl 16:140-3p.

**Powell, D.,R., Suwanichkul, A.,** 1993, HNF1 activates transcription of the human gene for insulin-like growth factor binding protein-1. DNA and cell biology May;12(4):283-9p.

**Shepherd, L., M., Campbell, S., C., Macfarlane, W., M.,** 2004, Transcriptional regulation of the IAPP gene in pancreatic beta-cells. Biochimica et biophysica acta, Nov 24;1681(1):28-37pp.

**Stock., A.,J.,** 1989 Ninfa and A.M. Stock Protein phosphorylation and regulation of adaptive responses in bacteria. Microbiol. Rev, 450-490pp.

**Tanaka, T., Tomaru, Y., Nomura, Y., Miura, H., Suzuki, M., Hayashizaki, Y.,** 2004, Comprehensive search for HNF-1beta-regulated genes in mouse hepatoma cells perturbed by transcription regulatory factor-targeted RNAi. Nucleic acids research May 17;32(9):2740-50p.

**The Universal Protein Resource (UniProt),**

<http://www.uniprot.org/uniprot/P20823> (Erişim tarihi: 4 Şubat 2014).

**Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği (TEMED),** 2009, Diabetes Mellitus Çalışma ve Eğitim Grupları, Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı Tedavi ve İzlem Klavuzu.4. Baskı, 3s.

**Wade, D.,P., Lindahl, G.,E., Lawn, R.,M.,** 1994, Apolipoprotein(a) gene transcription is regulated by liver-enriched trans-acting factor hepatocyte nuclear factor 1 alpha. The Journal of biological chemistry Aug 5;269(31):19757-65p.

**Winter ,W.,E., ,** 2000, Molecular and biochemical analysis of the MODY syndromes, Pediatric Diabetes 1: 88–117pp.

**Zhang, C.,K., Lin, W., Cai, Y.,N., Xu, P.,L., Dong, H., Li, M., Kong, Y.,Y., Fu, G., Xie, Y.,H., Huang, G.,M., Wang, Y.,** 2009, Characterization of the genomic structure and tissue-specific promoter of the human nuclear receptor NR5A2 (hB1F) gene. Gene Aug 8;273(2):239-49p.

**ÖZGEÇMİŞ****AZAR SHIRINOV****Telefon:** +90 (555) 4726562**Adres :** Atakent Mah, Turgut Özal Bulv 32, C1 91, Küçükçekmece, Istanbul/TÜRKİYE**E-mail :** shirinovazer@yahoo.com**Doğum Tarihi :** 27.04.1987**Doğum Yeri :** Lenkeran / AZERBAYCAN**Uyruğu:** Azerbaycan**Medeni Durumu :** Evli**Eğitim Bilgileri :**

2011 – 20015

**Yüksek Lisans**

Ege Üniversitesi Biyoteknoloji ABD

2005 – 20011

**Lisans**

2,67 / 4

Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi,  
Biyomühendislik Bölümü

Bitirme Tezi: Algal Biodizel Üretimi

**Araştırma Alanları:**

DNA İzolasyon

Polymerase Chain Reaction (PCR)

DNA Sequencing

Algal Biodizel Üretimi

Biyoteknoloji

Mikrobiyoloji

Biyoproses Mühendisliği

Biyoinformatik

**Başarıları:**

Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi En Başarılı Yabancı Uyruklu Öğrenci,  
2011

**Projede Yaptığı Görev:**

“

HNF1A DNA Transkripsiyon Faktör Geninin MODY3 Hastalarında Araştırılması,  
Fenotip Genotip İlişkisi

Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi 05/2014

**Yabancı Dil**

Azerbaycanca

Türkçe

İngilizce

Rusca

**Bilgisayar Becerileri:**

MS Office Programları (Etkin), Finch TV, SPSS, Adobe Tasarım Programları

**Hobiler**

Yüzme, Serbest Güreş, Kitap Okumak

## **EKLER**

Ek 1 HNF1A geni ilk altı eksonda saptanan nükleotid değişimleri.

Ek 2 HNF1A geni 7,8,9, 10 eksonları ve 3'UTR bölgesinde belirlenen nükleotid değişimleri.

Ek 3 HNF1A geninde belirlenen mutasyonlar (Ellard, et al, 2006).

Ek 4 Bir araştırmacıya ait araştırmada belirlenen 118 yeni mutasyon (Bellanne-Chantelot et al, 2007).

Ek 5 HGMD veri bankasında bulunan missense mutasyonların listesi

Ek 6 HGMD veri bankasında bulunan “splicing” bölge mutasyonların listesi

Ek 7 HGMD veri bankasında bulunan delesyon mutasyonların listesi

Ek 8 MODY sendromuna neden olan genler ve klinik özellikleri

Ek 1 HNF1A geni ilk altı eksonda saptanan nükleotid değişimleri

| Has<br>ta | Ad-<br>Soya<br>d | Ekson1                                | Ekso<br>n 2 | Ekson 3                | Ekson 4                              | Ekso<br>n 5 | Ekso<br>n 6 |
|-----------|------------------|---------------------------------------|-------------|------------------------|--------------------------------------|-------------|-------------|
| 1.        | E.Ç              | Leu17Leu / Ile27Leu <b>H</b>          | N           | N                      | N                                    | N           | N           |
| 2.        | Z.G              | Leu17Leu <b>h</b>                     | N           | N                      | Gly288Gly<br><b>h</b>                | N           | N           |
| 3.        | T.A              | Leu17Leu / Ile27Leu <b>H</b>          | N           | N                      | N                                    | N           | N           |
| 4.        | Z.H              | N                                     | N           | N                      | Gly288Gly<br><b>h</b>                | N           | N           |
| 5.        | B.D              | Leu17Leu <b>H</b> /Ile27Leu <b>h</b>  | N           | N                      | N                                    | N           | N           |
| 6.        | H.Y              | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N           | N                      | N                                    | N           | N           |
| 7.        | N.B              | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N           | N                      | N                                    | N           | N           |
| 8.        | E.T              | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N           | N                      | Gly288Gly<br><b>h</b>                | N           | N           |
| 9.        | M.B              | N                                     | N           | N                      | Gly288Gly<br><b>h</b>                | N           | N           |
| 10.       | G.B              | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N           | Thr231<br>Thr <b>H</b> | Gly288Gly<br><b>h</b>                | N           | N           |
| 11.       | G.B              | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N           | N                      | Gly288Gly<br><b>h</b>                | N           | N           |
| 12.       | H.B              | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N           | Thr231<br>Thr <b>H</b> | Gly288Gly<br><b>H</b>                | N           | N           |
| 13.       | Ö.B              | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N           | N                      | N                                    | N           | N           |
| 14.       | G.D              | N                                     | N           | N                      | N                                    | N           | N           |
| 15.       | M.Ç              | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N           | N                      | N                                    | N           | N           |
| 16.       | A.B              | Leu17Leu <b>H</b> / Ile27Leu <b>h</b> | N           | N                      | Gly288Gly<br><b>h</b>                | N           | N           |
| 17.       | F.E              | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N           | N                      | N                                    | N           | N           |
| 18.       | A.E              | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N           | N                      | N                                    | N           | N           |
| 19.       | A.E              | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N           | N                      | N                                    | N           | N           |
| 20.       | E.D              | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N           | N                      | N                                    | N           | N           |
| 21.       | M.D              | Leu17Leu / Ile27Leu <b>H</b>          | N           | N                      | N                                    | N           | N           |
| 22.       | M.A              | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N           | N                      | Gly288Gly<br>/Pro290Ar<br><b>g h</b> | N           | N           |
| 23.       | B.Y              | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N           | N                      | N                                    | N           | N           |
| 24.       | G.Y              | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N           | N                      | N                                    | N           | N           |
| 25.       | A.K              | Leu17Leu / Ile27Leu <b>H</b>          | N           | N                      | N                                    | N           | N           |
| 26.       | İ.Ş              | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N           | N                      | N                                    | N           | N           |
| 27.       | C.Ç              | Leu17Leu <b>h</b>                     | N           | N                      | Gly288Gly<br><b>h</b>                | N           | N           |
| 28.       | M.D              | Leu17Leu / Ile27Leu <b>H</b>          | N           | N                      | N                                    | N           | N           |
| 29.       | Y.Y              | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N           | N                      | N                                    | N           | N           |
| 30.       | E.A              | Leu17Leu <b>h</b>                     | N           | N                      | Gly288Gly<br><b>h</b>                | N           | N           |
| 31.       | A.Y              | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N           | N                      | N                                    | N           | N           |
| 32.       | M.Ç              | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N           | N                      | N                                    | N           | N           |
| 33.       | M.A              | Leu17Leu / Ile27Leu <b>H</b>          | N           | N                      | N                                    | N           | N           |
| 34.       | S.A              | N                                     | N           | N                      | N                                    | N           | N           |

|    |     |                                       |   |   |                       |   |   |
|----|-----|---------------------------------------|---|---|-----------------------|---|---|
| 35 | K.A | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N | N | Gly288Gly<br><b>h</b> | N | N |
| 36 | C.T | Leu17Leu <b>H</b> / Ile27Leu <b>h</b> | N | N | Gly288Gly<br><b>h</b> | N | N |
| 37 | B.P | Leu17Leu <b>h</b>                     | N | N | Gly288Gly<br><b>h</b> | N | N |
| 38 | F.A | Leu17Leu <b>h</b>                     | N | N | N                     | N | N |
| 39 | K.Y | Leu17Leu <b>h</b>                     | N | N | Gly288Gly<br><b>h</b> | N | N |
| 40 | A.A | Leu17Leu / Ile27Leu <b>H</b>          | N | N | N                     | N | N |
| 41 | H.Ö | Leu17Leu <b>H</b> / Ile27Leu <b>h</b> | N | N | Gly288Gly<br><b>h</b> | N | N |
| 42 | E.B | Leu17Leu <b>h</b>                     | N | N | N                     | N | N |
| 43 | U.A | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N | N | Gly288Gly<br><b>h</b> | N | N |
| 44 | O.S | N                                     | N | N | N                     | N | N |
| 45 | A.A | Leu17Leu / Ile27Leu <b>H</b>          | N | N | Gly288Gly<br><b>h</b> | N | N |
| 46 | H.G | Ile27Leu <b>h</b>                     | N | N | N                     | N | N |
| 47 | G.G | Leu17Leu <b>h</b> / Ile27Leu <b>H</b> | N | N | N                     | N | N |
| 48 | F.P | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N | N | Gly288Gly<br><b>h</b> | N | N |
| 49 | Ö.P | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N | N | Gly288Gly<br><b>h</b> | N | N |
| 50 | Y.Ö | Leu17Leu <b>h</b>                     | N | N | N                     | N | N |
| 51 | E.S | Leu17Leu <b>h</b>                     | N | N | N                     | N | N |
| 52 | N.A | Leu17Leu <b>h</b>                     | N | N | N                     | N | N |
| 53 | N.Y | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N | N | Gly288Gly<br><b>h</b> | N | N |
| 54 | S.Y | Leu17Leu <b>H</b> / Ile27Leu <b>h</b> | N | N | Gly288Gly<br><b>h</b> | N | N |
| 55 | S.C | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N | N | Gly288Gly<br><b>h</b> | N | N |
| 56 | G.B | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N | N | N                     | N | N |
| 57 | O.G | Leu17Leu / Ile27Leu <b>H</b>          | N | N | Gly288Gly<br><b>h</b> | N | N |
| 58 | H.Ş | N                                     | N | N | N                     | N | N |
| 59 | O.Ş | Leu17Leu / Ile27Leu <b>H</b>          | N | N | N                     | N | N |
| 60 | M.Y | Leu17Leu <b>h</b>                     | N | N | Gly288Gly<br><b>h</b> | N | N |
| 61 | C.T | N                                     | N | N | N                     | N | N |
| 62 | T.K | Leu17Leu <b>H</b> / Ile27Leu <b>h</b> | N | N | N                     | N | N |
| 63 | H.K | Leu17Leu / Ile27Leu <b>H</b>          | N | N | N                     | N | N |
| 64 | S.K | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N | N | N                     | N | N |
| 65 | F.U | Leu17Leu / Ile27Leu <b>H</b>          | N | N | N                     | N | N |
| 66 | K.E | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N | N | N                     | N | N |
| 67 | S.Ö | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N | N | N                     | N | N |
| 68 | A.A | Leu17Leu <b>h</b>                     | N | N | N                     | N | N |
| 69 | B.A | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N | N | N                     | N | N |
| 70 | E.D | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N | N | N                     | N | N |
| 71 | R.K | Leu17Leu <b>H</b> / Ile27Leu <b>h</b> | N | N | N                     | N | N |
| 72 | R.Ö | Leu17Leu / Ile27Leu <b>H</b>          | N | N | N                     | N | N |
| 73 | F.Ş | Leu17Leu <b>H</b> / Ile27Leu <b>h</b> | N | N | N                     | N | N |

|     |     |                                       |   |   |                                               |   |   |
|-----|-----|---------------------------------------|---|---|-----------------------------------------------|---|---|
| 74  | M.A | Leu17Leu <b>H</b> / Ile27Leu <b>h</b> | N | N | N                                             | N | N |
| 75  | H.K | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N | N | N                                             | N | N |
| 76  | O.K | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N | N | N                                             | N | N |
| 77  | C.G | Leu17Leu <b>h</b>                     | N | N | Gly288Gly<br><b>h</b>                         | N | N |
| 78  | A.K | Leu17Leu <b>H</b> / Ile27Leu <b>h</b> | N | N | Gly288Gly<br><b>h</b>                         | N | N |
| 79  | H.A | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N | N | Gly288Gly<br><b>h</b>                         | N | N |
| 80  | H.A | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N | N | Gly288Gly<br><b>h</b>                         | N | N |
| 81  | Z.A | N                                     | N | N | N                                             | N | N |
| 82  | S.A | N                                     | N | N | N                                             | N | N |
| 83  | D.Ş | Leu17Leu / Ile27Leu <b>H</b>          | N | N | N                                             | N | N |
| 84  | A.S | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N | N | N                                             | N | N |
| 85  | O.A | Leu17Leu <b>h</b>                     | N | N | N                                             | N | N |
| 86  | O.Ç | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N | N | N                                             | N | N |
| 87  | F.E | N                                     | N | N | Gly288Gly<br><b>H</b>                         | N | N |
| 88  | P.O | Leu17Leu / Ile27Leu <b>H</b>          | N | N | N                                             | N | N |
| 89  | M.D | Leu17Leu / Ile27Leu <b>H</b>          | N | N | N                                             | N | N |
| 90  | B.M | Leu17Leu / Ile27Leu <b>H</b>          | N | N | N                                             | N | N |
| 91  | Ö.K | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N | N | Arg272Gly<br><b>h</b> /Gly288<br>Gly <b>h</b> | N | N |
| 92  | G.İ | Leu17Leu <b>h</b>                     | N | N | Gly288Gly<br><b>h</b>                         | N | N |
| 93  | N.E | Leu17Leu <b>H</b> / Ile27Leu <b>h</b> | N | N | N                                             | N | N |
| 94  | M.A | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N | N | Gly288Gly<br><b>h</b>                         | N | N |
| 95  | G.B | N                                     | N | N | N                                             | N | N |
| 96  | İ.B | Leu17Leu / Ile27Leu <b>H</b>          | N | N | N                                             | N | N |
| 97  | Ü.G | Leu17Leu / Ile27Leu <b>H</b>          | N | N | Gly288Gly<br><b>h</b>                         | N | N |
| 98  | H.Ç | Leu17Leu <b>h</b>                     | N | N | N                                             | N | N |
| 99  | R.Ç | N                                     | N | N | N                                             | N | N |
| 100 | M.E | Leu17Leu <b>H</b> / Ile27Leu <b>h</b> | N | N | N                                             | N | N |
| 101 | E.P | N                                     | N | N | N                                             | N | N |
| 102 | Ş.P | N                                     | N | N | N                                             | N | N |
| 103 | M.P | N                                     | N | N | N                                             | N | N |
| 104 | Y.D | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N | N | N                                             | N | N |
| 105 | İ.K | N                                     | N | N | Gly288Gly<br><b>h</b>                         | N | N |
| 106 | B.K | Leu17Leu <b>h</b>                     | N | N | N                                             | N | N |
| 107 | İ.K | Leu17Leu <b>h</b>                     | N | N | Gly288Gly<br><b>h</b>                         | N | N |

|     |     |                                           |   |                        |                                                    |   |   |
|-----|-----|-------------------------------------------|---|------------------------|----------------------------------------------------|---|---|
| 108 | Y.F | Leu17Leu <b>h</b>                         | N | N                      | Gly288Gly<br><b>h</b>                              | N | N |
| 109 | P.K | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>              | N | N                      | N                                                  | N | N |
| 110 | H.Y | Leu17Leu <b>H</b> / Ile27Leu <b>h</b>     | N | N                      | N                                                  | N | N |
| 111 | B.Y | N                                         | N | N                      | Gly288Gly<br><b>H</b>                              | N | N |
| 112 | E.Y | Leu17Leu <b>H</b> / Ile27Leu<br><b>h.</b> | N | N                      | N                                                  | N | N |
| 113 | F.T | N                                         | N | N                      | N                                                  | N | N |
| 114 | M.T | N                                         | N | N                      | N                                                  | N | N |
| 115 | M.T | N                                         | N | N                      | N                                                  | N | N |
| 116 | A.D | Leu17Leu / Ile27Leu <b>H.</b>             | N | N                      | N                                                  | N | N |
| 117 | N.S | Leu17Leu/ Ile27Leu /<br>Gln28His <b>h</b> | N | N                      | N                                                  | N | N |
| 118 | M.D | N                                         | N | N                      | Gly288Gly<br><b>h</b>                              | N | N |
| 119 | C.Y | Leu17Leu / Ile27Leu <b>H</b>              | N | N                      | N                                                  | N | N |
| 120 | G.Y | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>              | N | N                      | Gly288Gly<br><b>h</b>                              | N | N |
| 121 | N.Y | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>              | N | N                      | Gly288Gly<br><b>h</b>                              | N | N |
| 122 | M.Y | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>              | N | N                      | Gly288Gly<br><b>h</b>                              | N | N |
| 123 | S.A | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>              | N | N                      | Gly288Gly<br><b>h</b>                              | N | N |
| 124 | Z.A | N                                         | N | N                      | N                                                  | N | N |
| 125 | F.A | N                                         | N | N                      | N                                                  | N | N |
| 126 | N.T | Leu17Leu / Ile27Leu <b>H.</b>             | N | N                      | N                                                  | N | N |
| 127 | F.Ö | Leu17Leu <b>H</b> / Ile27Leu <b>h</b>     | N | N                      | N                                                  | N | N |
| 128 | C.T | N                                         | N | N                      | Gly288Gly<br><b>h</b>                              | N | N |
| 129 | F.A | N                                         | N | N                      | Gly288Gly<br><b>h</b>                              | N | N |
| 130 | B.Y | N                                         | N | N                      | N                                                  | N | N |
| 131 | F.Ç | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>              | N | His179<br>His <b>h</b> | Gly288Gly<br><b>h</b>                              | N | N |
| 132 | E.Ö | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>              | N | N                      | Arg272Gly<br>y<br><b>h</b> /Gly288<br>Gly <b>h</b> | N | N |
| 133 | C.Ş | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>              | N | N                      | Gly288Gly<br><b>h</b>                              | N | N |

|         |     |                                       |   |   |                                       |   |   |
|---------|-----|---------------------------------------|---|---|---------------------------------------|---|---|
| 13<br>4 | E.Ö | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N | N | Arg272Gly<br>h/Gly288<br>Gly <b>h</b> | N | N |
| 13<br>5 | R.Y | N                                     | N | N | Gly288Gly<br><b>h</b>                 | N | N |
| 13<br>6 | F.Z | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N | N | Gly288Gly<br><b>h</b>                 | N | N |
| 13<br>7 | S.Y | Leu17Leu <b>h</b>                     | N | N | Gly288Gly<br><b>h</b>                 | N | N |
| 13<br>8 | M.B | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N | N | N                                     | N | N |
| 13<br>9 | S.B | Leu17Leu <b>H</b>                     | N | N | N                                     | N | N |
| 14<br>0 | D.K | N                                     | N | N | N                                     | N | N |
| 14<br>1 | B.S | Leu17Leu <b>h</b>                     | N | N | Gly288Gly<br><b>h</b>                 | N | N |
| 14<br>2 | E.Y | Leu17Leu <b>H</b> / Ile27Leu <b>h</b> | N | N | N                                     | N | N |
| 14<br>3 | B.G | Leu17Leu <b>h</b>                     | N | N | N                                     | N | N |
| 14<br>4 | O.D | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N | N | N                                     | N | N |
| 14<br>5 | C.A | N                                     | N | N | Gly288Gly<br><b>h</b>                 | N | N |
| 14<br>6 | E.T | Leu17Leu / Ile27Leu <b>h</b>          | N | N | Gly288Gly<br><b>h</b>                 | N | N |
| 14<br>7 | A.D | Leu17Leu / Ile27Leu <b>H</b>          | N | N | Gly288Gly<br><b>h</b>                 | N | N |
| 14<br>8 | E.İ | Leu17Leu <b>h</b>                     | N | N | N                                     | N | N |
| 14<br>9 | A.G | Leu17Leu <b>h</b>                     | N | N | Gly288Gly<br><b>h</b>                 | N | N |
| 15<br>0 | K.D | Leu17Leu / Ile27Leu <b>H</b>          | N | N | N                                     | N | N |

Ek 2 HNF1A geni 7,8,9, 10 eksonları ve 3'UTR bölgesinde belirlenen nükleotid değişimleri.

| Hasta | 7.Ekson                                                | 8.Ekson                                 | 9.E | 10.E | UTR                                    |
|-------|--------------------------------------------------------|-----------------------------------------|-----|------|----------------------------------------|
| 1.    | Leu459Leu <b>H</b> /Ser487Asn <b>H</b><br>/IVS7+8G>A   | IVS8+29T>C <b>H</b>                     | N   | N    | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T <b>h</b> |
| 2.    | N                                                      | Thr515Thr<br>H./IVS8+29T>C<br><b>H.</b> | N   | N    | N                                      |
| 3.    | Leu459Leu <b>h</b> ./Ser487Asn<br><b>h</b> ./IVS7+8G>A | IVS8+29T>C <b>H</b>                     | N   | N    | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T <b>h</b> |
| 4.    | Leu459Leu <b>h</b> ./Ser487Asn<br><b>h</b> ./IVS7+8G>A | Thr515Thr<br>H./IVS8+29T>C<br><b>H.</b> | N   | N    | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T <b>h</b> |
| 5.    | Leu459Leu <b>h</b> ./Ser487Asn <b>h</b>                | N                                       | N   | N    | N                                      |
| 6.    | Leu459Leu <b>h</b> ./Ser487Asn<br><b>h</b> ./IVS7+8G>A | IVS8+29T>C <b>h</b>                     | N   | N    | 3'UTR+197G>T <b>h</b>                  |

|     |                                     |                            |   |   |                               |
|-----|-------------------------------------|----------------------------|---|---|-------------------------------|
| 7.  | Leu459Leu h./Ser487Asn h./IVS7+8G>A | IVS8+29T>C h               | N | N | 3'UTR+197G>T h                |
| 8.  | Leu459Leu h./Ser487Asn h./IVS7+8G>A | IVS8+29T>C H               | N | N | 3'UTR+438G>A /3'UTR+197G>T h  |
| 9.  | N                                   | IVS8+29T>C H               | N | N | 3'UTR+197G>T H                |
| 10. | Leu459Leu h./Ser487Asn h./IVS7+8G>A | IVS8+29T>C H               | N | N | 3'UTR+438G>A /3'UTR+197G>T h  |
| 11. | Leu459Leu h./Ser487Asn h./IVS7+8G>A | IVS8+29T>C H               | N | N | 3'UTR+438G>A /3'UTR+197G>T h  |
| 12. | Leu459Leu h./Ser487Asn h./IVS7+8G>A | IVS8+29T>C H               | N | N | 3'UTR+438G>A /3'UTR+197G>T h  |
| 13. | Leu459Leu h./Ser487Asn h./IVS7+8G>A | IVS8+29T>C h               | N | N | 3'UTR+438G>A /3'UTR+197G>T h  |
| 14. | N                                   | N                          | N | N | N                             |
| 15. | N                                   | N                          | N | N | N                             |
| 16. | Leu459Leu h./Ser487Asn h./IVS7+8G>A | Thr515Thr H./IVS8+29T>C H. | N | N | 3'UTR+438G>A H/3'UTR+197G>T h |
| 17. | Leu459Leu h./Ser487Asn h./IVS7+8G>A | IVS8+29T>C h               | N | N | 3'UTR+438G>A /3'UTR+197G>T h  |
| 18. | Leu459Leu h./Ser487Asn h./IVS7+8G>A | IVS8+29T>C h               | N | N | 3'UTR+438G>A /3'UTR+197G>T h  |
| 19. | Leu459Leu h./Ser487Asn h./IVS7+8G>A | IVS8+29T>C h               | N | N | 3'UTR+438G>A /3'UTR+197G>T h  |
| 20. | Leu459Leu h./Ser487Asn h./IVS7+8G>A | IVS8+29T>C h               | N | N | 3'UTR+438G>A /3'UTR+197G>T h  |
| 21. | Leu459Leu H /Ser487Asn H /IVS7+8G>A | IVS8+29T>C H               | N | N | 3'UTR+438G>A /3'UTR+197G>T H  |
| 22. | Leu459Leu h./Ser487Asn h./IVS7+8G>A | Thr515Thr H./IVS8+29T>C H  | N | N | 3'UTR+438G>A /3'UTR+197G>T h  |
| 23. | Leu459Leu h./Ser487Asn h./IVS7+8G>A | IVS8+29T>C H               | N | N | 3'UTR+438G>A /3'UTR+197G>T h  |
| 24. | Leu459Leu h./Ser487Asn h./IVS7+8G>A | IVS8+29T>C H               | N | N | 3'UTR+438G>A /3'UTR+197G>T h  |
| 25. | Leu459Leu H /Ser487Asn H /IVS7+8G>A | IVS8+29T>C H               | N | N | 3'UTR+438G>A /3'UTR+197G>T H  |
| 26. | Leu459Leu h./Ser487Asn h./IVS7+8G>A | IVS8+29T>C h               | N | N | 3'UTR+438G>A /3'UTR+197G>T h  |
| 27. | N                                   | IVS8+29T>C H               | N | N | N                             |
| 28. | Leu459Leu H /Ser487Asn H /          | N                          | N | N | N                             |
| 29. | Leu459Leu h./Ser487Asn h./IVS7+8G>A | IVS8+29T>C h               | N | N | 3'UTR+438G>A /3'UTR+197G>T h  |
| 30. | N                                   | Thr515Thr h                | N | N | N                             |
| 31. | Leu459Leu h./Ser487Asn h./IVS7+8G>A | N                          | N | N | N                             |
| 32. | Leu459Leu h./Ser487Asn h./IVS7+8G>A | IVS8+29T>C h               | N | N | 3'UTR+438G>A /3'UTR+197G>T h  |
| 33. | Leu459Leu H /Ser487Asn H /IVS7+8G>A | IVS8+29T>C H               |   |   | 3'UTR+438G>A /3'UTR+197G>T H  |
| 34. | N                                   | N                          | N | N | N                             |
| 35. | Leu459Leu h./Ser487Asn h./IVS7+8G>A | Thr515Thr h./IVS8+29T>C H  | N | N | 3'UTR+438G>A /3'UTR+197G>T h  |

|    |                                          |                                  |                |   |                                 |
|----|------------------------------------------|----------------------------------|----------------|---|---------------------------------|
| 36 | N                                        | Thr515Thr<br>h./IVS8+29T>C<br>h  | N              | N | N                               |
| 37 | IVS7+8G>A                                | IVS8+29T>C H                     | N              | N | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T h |
| 38 | Leu459Leu H /Ser487Asn H<br>/IVS7+8G>A   | N                                | N              | N | N                               |
| 39 | N                                        | Thr515Thr<br>h./IVS8+29T>C<br>H  | N              | N | N                               |
| 40 | Leu459Leu H /Ser487Asn H<br>/IVS7+8G>A   | N                                | N              | N | N                               |
| 41 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A   | Thr515Thr<br>h./IVS8+29T>C<br>H  | N              | N | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T h |
| 42 | Leu459Leu H /Ser487Asn H<br>/IVS7+8G>A   | N                                | N              | N | N                               |
| 43 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A   | Thr515Thr<br>h./IVS8+29T>C<br>H  | N              | N | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T h |
| 44 | N                                        | N                                | N              | N | N                               |
| 45 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A   | Thr515Thr<br>h./IVS8+29T>C<br>H  | N              | N | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T h |
| 46 | N                                        | Thr515Thr<br>h./IVS8+29T>C<br>h  | N              | N | N                               |
| 47 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A   | N                                | N              | N | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T h |
| 48 | IVS7+8G>A h                              | Thr515Thr<br>h./IVS8+29T>C<br>H  | N              | N | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T h |
| 49 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A   | Thr515Thr<br>h./IVS8+29T>C<br>H  | N              | N | 3'UTR+438G>A h                  |
| 50 | N                                        | IVS8+29T>C<br>h./IVS8+75G>A<br>h | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T h |
| 51 | IVS7+8G>A h                              | IVS8+29T>C h                     | N              | N | 3'UTR+438G>A H                  |
| 52 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A H | IVS8+29T>C H                     | N              | N | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T h |
| 53 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A   | Thr515Thr<br>h./IVS8+29T>C<br>H  | N              | N | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T h |
| 54 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A   | Thr515Thr<br>h./IVS8+29T>C<br>H  | N              | N | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T h |
| 55 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A   | Thr515Thr<br>h./IVS8+29T>C<br>H  | N              | N | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T h |
| 56 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A   | IVS8+29T>C h                     | N              | N | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T h |
| 57 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A   | Thr515Thr<br>h./IVS8+29T>C<br>H  | N              | N | 3'UTR+197G>T H                  |

|    |                                                                 |                                                |                       |          |                                        |
|----|-----------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|-----------------------|----------|----------------------------------------|
| 58 | IVS7+8G>A                                                       | IVS8+29T>C <b>H</b>                            | Ser574Gly<br><b>H</b> | <b>N</b> | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T <b>H</b> |
| 59 | Leu459Leu <b>H</b> ./Ser487Asn<br><b>H</b> ./IVS7+8G>A          | IVS8+29T>C <b>H</b>                            | <b>N</b>              | <b>N</b> | <b>N</b>                               |
| 60 | <b>N</b>                                                        | Thr515Thr<br><b>h</b> ./IVS8+29T>C<br><b>h</b> | <b>N</b>              | <b>N</b> | <b>N</b>                               |
| 61 | <b>N</b>                                                        | IVS8+29T>C <b>h</b>                            | <b>N</b>              | <b>N</b> | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T <b>H</b> |
| 62 | Leu459Leu <b>h</b> ./Ser487Asn<br><b>h</b> ./IVS7+8G>A <b>H</b> | IVS8+29T>C <b>H</b>                            | <b>N</b>              | <b>N</b> | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T <b>H</b> |
| 63 | Leu459Leu <b>h</b> ./Ser487Asn<br><b>h</b> ./IVS7+8G>A <b>H</b> | IVS8+29T>C <b>H</b>                            | <b>N</b>              | <b>N</b> | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T <b>h</b> |
| 64 | Leu459Leu <b>h</b> ./Ser487Asn<br><b>h</b> ./IVS7+8G>A          | IVS8+29T>C <b>H</b>                            | <b>N</b>              | <b>N</b> | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T <b>H</b> |
| 65 | Leu459Leu <b>H</b> ./Ser487Asn<br><b>H</b> ./IVS7+8G>A          | IVS8+29T>C <b>H</b>                            | <b>N</b>              | <b>N</b> | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T <b>h</b> |
| 66 | Leu459Leu <b>h</b> ./Ser487Asn<br><b>h</b> ./IVS7+8G>A          | IVS8+29T>C <b>h</b>                            | <b>N</b>              | <b>N</b> | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T <b>h</b> |
| 67 | Leu459Leu <b>h</b> ./Ser487Asn<br><b>h</b> ./IVS7+8G>A          | IVS8+29T>C <b>h</b>                            | <b>N</b>              | <b>N</b> | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T <b>h</b> |
| 68 | Leu459Leu <b>h</b> ./Ser487Asn<br><b>h</b> ./IVS7+8G>A          | IVS8+29T>C <b>h</b>                            | <b>N</b>              | <b>N</b> | 3'UTR+438G>A <b>h</b>                  |
| 69 | Leu459Leu <b>h</b> ./Ser487Asn<br><b>h</b> ./IVS7+8G>A          | IVS8+29T>C <b>h</b>                            | <b>N</b>              | <b>N</b> | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T <b>h</b> |
| 70 | Leu459Leu <b>h</b> ./Ser487Asn<br><b>h</b> ./IVS7+8G>A          | IVS8+29T>C <b>h</b>                            | <b>N</b>              | <b>N</b> | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T <b>h</b> |
| 71 | Leu459Leu <b>h</b> ./Ser487Asn<br><b>h</b> ./IVS7+8G>A <b>H</b> | IVS8+29T>C <b>H</b>                            | <b>N</b>              | <b>N</b> | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T <b>H</b> |
| 72 | Leu459Leu <b>H</b> ./Ser487Asn<br><b>H</b> ./IVS7+8G>A          | IVS8+29T>C <b>H</b>                            | <b>N</b>              | <b>N</b> | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T <b>H</b> |
| 73 | Leu459Leu <b>h</b> ./Ser487Asn<br><b>h</b> ./IVS7+8G>A          | IVS8+29T>C <b>H</b>                            | <b>N</b>              | <b>N</b> | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T <b>h</b> |
| 74 | Leu459Leu <b>h</b> ./Ser487Asn<br><b>h</b> ./IVS7+8G>A          | IVS8+29T>C <b>H</b>                            | <b>N</b>              | <b>N</b> | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T <b>h</b> |
| 75 | Leu459Leu <b>h</b> ./Ser487Asn<br><b>h</b> ./IVS7+8G>A          | IVS8+29T>C <b>H</b>                            | <b>N</b>              | <b>N</b> | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T <b>h</b> |
| 76 | Leu459Leu <b>h</b> ./Ser487Asn<br><b>h</b> ./IVS7+8G>A          | IVS8+29T>C <b>h</b>                            | <b>N</b>              | <b>N</b> | 3'UTR+197G>T <b>h</b>                  |
| 77 | IVS7+8G>A <b>h</b>                                              | IVS8+29T>C <b>H</b>                            | <b>N</b>              | <b>N</b> | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T <b>h</b> |
| 78 | Leu459Leu <b>h</b> ./Ser487Asn<br><b>h</b> ./IVS7+8G>A          | Thr515Thr<br><b>h</b> ./IVS8+29T>C<br><b>H</b> | <b>N</b>              | <b>N</b> | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T <b>h</b> |
| 79 | Leu459Leu <b>h</b> ./Ser487Asn<br><b>h</b> ./IVS7+8G>A          | Thr515Thr<br><b>h</b> ./IVS8+29T>C<br><b>H</b> | <b>N</b>              | <b>N</b> | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T <b>h</b> |
| 80 | Leu459Leu <b>h</b> ./Ser487Asn<br><b>h</b> ./IVS7+8G>A          | Thr515Thr<br><b>h</b> ./IVS8+29T>C<br><b>H</b> | <b>N</b>              | <b>N</b> | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T <b>h</b> |
| 81 | <b>N</b>                                                        | <b>N</b>                                       | Ser574Gly<br><b>H</b> | <b>N</b> | <b>N</b>                               |
| 82 | <b>N</b>                                                        | <b>N</b>                                       | Ser574Gly<br><b>H</b> | <b>N</b> | <b>N</b>                               |
| 83 | Leu459Leu <b>H</b> ./Ser487Asn<br><b>h</b> ./IVS7+8G>A <b>H</b> | <b>N</b>                                       | <b>N</b>              | <b>N</b> | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T <b>h</b> |

|     |                                          |                                 |                |   |                                  |
|-----|------------------------------------------|---------------------------------|----------------|---|----------------------------------|
| 84  | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A   | IVS8+29T>C H                    | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T h  |
| 85  | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A   | N                               | N              | N | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T h  |
| 86  | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A H | IVS8+29T>C h                    | N              | N | 3'UTR+197G>T h                   |
| 87  | N                                        | Thr515Thr<br>H./IVS8+29T>C<br>H | N              | N | N                                |
| 88  | Leu459Leu H./Ser487Asn<br>H./IVS7+8G>A   | IVS8+29T>C H                    | N              | N | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T h  |
| 89  | Leu459Leu H./Ser487Asn<br>H./IVS7+8G>A   | IVS8+29T>C H                    | N              | N | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T h  |
| 90  | Leu459Leu H./Ser487Asn<br>H./IVS7+8G>A   | IVS8+29T>C H                    | N              | N | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T h  |
| 91  | N                                        | IVS8+29T>C H                    | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T h  |
| 92  | N                                        | IVS8+29T>C H                    | N              | N | N                                |
| 93  | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A H | IVS8+29T>C H                    | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A<br>h/3'UTR+197G>T h |
| 94  | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A   | Thr515Thr<br>h./IVS8+29T>C<br>H | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A<br>h/3'UTR+197G>T h |
| 95  | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A   | IVS8+29T>C h                    | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A<br>h/3'UTR+197G>T h |
| 96  | Leu459Leu H./Ser487Asn<br>H./IVS7+8G>A   | IVS8+29T>C H                    | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A h                   |
| 97  | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A H | Thr515Thr<br>h./IVS8+29T>C<br>H | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A h                   |
| 98  | IVS7+8G>A h                              | IVS8+29T>C h                    | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A h                   |
| 99  | N                                        | N                               | Ser574Gly<br>H | N | N                                |
| 100 | IVS7+8G>A h                              | IVS8+29T>C H                    | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A h                   |
| 101 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A   | IVS8+29T>C h                    | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A h                   |
| 102 | Leu459Leu H./Ser487Asn<br>H./IVS7+8G>A   | IVS8+29T>C H                    | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A H                   |
| 103 | Leu459Leu H./Ser487Asn<br>H./IVS7+8G>A   | IVS8+29T>C H                    | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A H                   |
| 104 | Leu459Leu H./Ser487Asn<br>H./IVS7+8G>A   | IVS8+29T>C h                    | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A H                   |
| 105 | N                                        | Thr515Thr<br>h./IVS8+29T>C<br>h | Ser574Gly<br>H | N | N                                |
| 106 | IVS7+8G>A h                              | IVS8+29T>C H                    | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A<br>h/3'UTR+197G>T h |
| 107 | IVS7+8G>A h                              | Thr515Thr<br>h./IVS8+29T>C<br>H | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A h                   |
| 108 | IVS7+8G>A h                              | Thr515Thr<br>h./IVS8+29T>C<br>H | N              | N | 3'UTR+438G>A h                   |

|     |                                          |                                 |                |   |                                  |
|-----|------------------------------------------|---------------------------------|----------------|---|----------------------------------|
| 109 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A   | IVS8+29T>C h                    | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A h                   |
| 110 | N                                        | IVS8+29T>C H                    | Ser574Gly<br>H | N | N                                |
| 111 | N                                        | Thr515Thr<br>H./IVS8+29T>C<br>H | Ser574Gly<br>H | N | N                                |
| 112 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A   | IVS8+29T>C H                    | N              | N | 3'UTR+438G>A h                   |
| 113 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A   | IVS8+29T>C h                    | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A h                   |
| 114 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A H | IVS8+29T>C H                    | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A H                   |
| 115 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A   | IVS8+29T>C H                    | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A H                   |
| 116 | Leu459Leu H./Ser487Asn<br>H./IVS7+8G>A   | IVS8+29T>C H                    | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A H                   |
| 117 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A   | IVS8+29T>C h                    | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A<br>h/3'UTR+197G>T h |
| 118 | N                                        | Thr515Thr<br>h./IVS8+29T>C<br>h | Ser574Gly<br>H | N | N                                |
| 119 | Leu459Leu H./Ser487Asn<br>H./IVS7+8G>A   | IVS8+29T>C H                    | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+197G>T H                   |
| 120 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A   | Thr515Thr<br>h./IVS8+29T>C<br>H | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+197G>T h                   |
| 121 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A H | Thr515Thr<br>h./IVS8+29T>C<br>H | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+197G>T h                   |
| 122 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A   | Thr515Thr<br>h./IVS8+29T>C<br>H | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+197G>T h                   |
| 123 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A   | Thr515Thr<br>h./IVS8+29T>C<br>H | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+197G>T H                   |
| 124 | N                                        | N                               | Ser574Gly<br>H | N | N                                |
| 125 | N                                        | N                               | Ser574Gly<br>H | N | N                                |
| 126 | Leu459Leu H./Ser487Asn<br>H./IVS7+8G>A   | IVS8+29T>C H                    | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A H                   |
| 127 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A H | IVS8+29T>C H                    | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A h                   |
| 128 | IVS7+8G>A h                              | Thr515Thr<br>h./IVS8+29T>C<br>H | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A h                   |
| 129 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A   | Thr515Thr<br>h./IVS8+29T>C<br>h | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A h                   |
| 130 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A   | N                               | Ser574Gly<br>H | N | N                                |
| 131 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A   | Thr515Thr<br>h./IVS8+29T>C<br>H | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A h                   |

|     |                                        |                                 |                |   |                                 |
|-----|----------------------------------------|---------------------------------|----------------|---|---------------------------------|
| 132 | N                                      | Thr515Thr<br>h./IVS8+29T>C<br>h | Ser574Gly<br>H | N | N                               |
| 133 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A | IVS8+29T>C h                    | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A h                  |
| 134 | N                                      | Thr515Thr<br>h./IVS8+29T>C<br>h | Ser574Gly<br>H | N | N                               |
| 135 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A | Thr515Thr h                     | Ser574Gly<br>H | N | N                               |
| 136 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A | Thr515Thr h                     | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A h                  |
| 137 | N                                      | Thr515Thr<br>h./IVS8+29T>C<br>H | Ser574Gly<br>H | N | N                               |
| 138 | Ser487Asn h                            | IVS8+29T>C h                    | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A h                  |
| 139 | Leu459Leu H./Ser487Asn<br>H./IVS7+8G>A | IVS8+29T>C H                    | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A h                  |
| 140 | N                                      | IVS8+29T>C h                    | Ser574Gly<br>H | N | N                               |
| 141 | IVS7+8G>A h                            | IVS8+29T>C H                    | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A h                  |
| 142 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A | N                               | Ser574Gly<br>H | N | N                               |
| 143 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A | IVS8+29T>C h                    | N              | N | 3'UTR+438G>A<br>/3'UTR+197G>T h |
| 144 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A | IVS8+29T>C H                    | Ser574Gly<br>h | N | 3'UTR+438G>A h                  |
| 145 | N                                      | IVS8+29T>C H                    | Ser574Gly<br>H | N | N                               |
| 146 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A | IVS8+29T>C H                    | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A h                  |
| 147 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A | IVS8+29T>C H                    | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A h                  |
| 148 | Ser487Asn h./IVS7+8G>A H               | IVS8+29T>C H                    | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A H                  |
| 149 | Leu459Leu h./Ser487Asn<br>h./IVS7+8G>A | IVS8+29T>C H                    | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A h                  |
| 150 | Ser487Asn h./IVS7+8G>A H               | IVS8+29T>C H                    | Ser574Gly<br>H | N | 3'UTR+438G>A H                  |

Ek 3 HNF1A geninde belirlenen mutasyonlar (Ellard, et al, 2006)

| Mutasyon Bölgesi     | Bölge   | Kodon | Mutasyon                      | Etki             |
|----------------------|---------|-------|-------------------------------|------------------|
| Q7X                  | Ekson 1 | 7     | CAG→TAG (stop)                | Gln (Q) →Stop    |
| L12H                 | Ekson 1 | 12    | CTC→CAC (missense)            | Leu (L)→His (H)  |
| G31D                 | Ekson 1 | 31    | GGT→GAT (missense)            | Gly (G)→Asp (D)  |
| E48K                 | Ekson 1 | 48    | GA(A/G)-AA(A/G)<br>(missense) | Glu (E)-Lys(K)   |
| R55G56fsdelGAGG<br>G | Ekson 1 | 55/56 | GAGGG deletion                | Frameshift(fs)   |
| L107R                | Ekson 1 | 107   | CTG→CGG (missense)            | Leu (L) →Arg (R) |
| S121fsdelC           | Ekson 2 | 121   | C deletion (delC)             | Frameshift (fs)  |
| Y122C                | Ekson 2 | 122   | TAC→TGC (missense)            | Tyr (Y) →Cys (C) |
| I128N                | Ekson 2 | 128   | ATC→AAC (missense)            | Ile (I) →Asn (N) |
| P129T Pro            | Ekson 2 | 129   | CCA→ACA (missense)            | (P) →Thr (T)     |
| R131W                | Ekson 2 | 131   | CGG→TGG (missense)            | Arg(R)→Trp(W)    |
| R131Q                | Ekson 2 | 132   | CGG→CAG (missense)            | Arg (R)→Gln (Q)  |
| V133M                | Ekson 2 | 133   | GTG→ATG (missense)            | Val (V)→Met (M)  |
| S142F                | Ekson 2 | 142   | TCC→TTC (missense)            | Ser (S)→Phe (F)  |
| H143Y                | Ekson 2 | 143   | CAC→TAC (missense)            | His (H)→Tyr (Y)  |
| R159W                | Ekson 2 | 159   | CGG→TGG (missense)            | Arg (R)→Trp (W)  |
| R159Q                | Ekson 2 | 159   | CGG→CAG (missense)            | Arg (R)→Gln (Q)  |
| R171X                | Ekson 2 | 171   | CGA→TGA (stop)                | Arg (R) →Stop    |
| K205Q                | Ekson 3 | 205   | AAG→CAG (missense)            | Lys (K)→Gln (Q)  |
| R229Q                | Ekson 3 | 229   | CGA→CCA (missense)            | Arg (R)→Gln (Q)  |
| R229X                | Ekson 3 | 229   | CGA→TGA (stop)                | Arg (R)→Stop     |
| C241G                | Ekson 4 | 241   | TGC→GGC (missense)            | Cys (C)→Gly (G)  |
| L254M                | Ekson 4 | 254   | CTG→ATG (missense)            | Leu (L) →Met (M) |
| V259D                | Ekson 4 | 259   | GTC→GAC (missense)            | Val (V) →Asp (D) |
| T260M                | Ekson 4 | 260   | ACG→ATG (missense)            | Thr (T) →Met (M) |
| R263C                | Ekson 4 | 263   | CGT→TGT (missense)            | Arg (R) →Cys (C) |
| R272H                | Ekson 4 | 272   | CGC→CAC (missense)            | Arg (R) →His (H) |
| P291fsdelA           | Ekson 4 | 291   | A deletion (delA)             | Frameshift (fs)  |
| P291fsdelC           | Ekson 4 | 291   | C deletion (delC)             | Frameshift (fs)  |
| P291fsinsC           | Ekson 4 | 291   | C insertion (insC)            | Frameshift (fs)  |
| G292fsdelG           | Ekson 4 | 292   | G deletion (delG)             | Frameshift (fs)  |

|                 |          |         |                      |                  |
|-----------------|----------|---------|----------------------|------------------|
| P379fsdelT      | Ekson 6  | 379     | T deletion (delT)    | Frameshift (fs)  |
| P379fsdelCT     | Ekson 6  | 379     | CT deletion (delCT)  | Frameshift (fs)  |
| P379fsinsC      | Ekson 6  | 379     | C insertion (insC)   | Frameshift (fs)  |
| T392fsdelA      | Ekson 6  | 392     | A deletion (delA)    | Frameshift (fs)  |
| Q401fsdelC      | Ekson 6  | 401     | C deletion (delC)    | Frameshift (fs)  |
| A443fsdelCA     | Ekson 6  | 443     | CA deletion (delCA)  | Frameshift (fs)  |
| P447L           | Ekson 7  | 447     | CCG→CTG (missense)   | Pro(P) →Leu (L)  |
| P519L           | Ekson 8  | 519     | CCG→CTG (missense)   | Pro(P) →Leu (L)  |
| T547E548fsdelTG | Ekson9   | 547/548 | TG deletion(delTG)   | Frameshift(fs)   |
| A559fsinsA      | Ekson 9  | 559     | GCA→GCAA (insA)      | Frameshift (fs)  |
| G574S           | Ekson 9  | 574     | GGC→TGC (missense)   | Gly (G) →Ser (S) |
| L584S585fsinsTC | Ekson 9  | 584/585 | TC insertion (insTC) | Frameshift (fs)  |
| S594I           | Ekson 10 | 594     | AGC→ATC (missense)   | Ser (S) →Ile (I) |
| E619K           | Ekson 10 | 619     | GAG→AAG (missense)   | Glu (E) →Lys (K) |
| T620I           | Ekson 10 | 620     | ACC→ATC (missense)   | Thr (T) →Ile (I) |
| IVS5nt-2A→G     | Intron 5 | -       | AG→GT                | Splicing Defect  |
| IVS9ntAT +1G→A  | Intron 9 | -       | GT→AT                | Splicing Defect  |

Ek 4 Bir araştırmacıya ait araştırmada belirlenen 118 yeni mutasyon (Bellanne-Chantelot et al, 2007).

| Lokasyon | DNA düzeyinde değişim | Protein düzeyinde değişim | Mutasyon tipi | Doğruluk |
|----------|-----------------------|---------------------------|---------------|----------|
| Ekson 1  | c.1A>C                | p.Met1Leu                 | Missense      | 1        |
| Ekson 1  | c.22C>A               | p.Leu8Met                 | Missense      | 2        |
| Ekson 1  | c.41C>T               | p.Ala14Val                | Missense      | 2        |
| Ekson 1  | c.49C>G               | p.Leu17Val                | Missense      | 1        |
| Ekson 1  | c.50T>A               | p.Leu17Gln                | Missense      | 1        |
| Ekson 1  | c.59G>C               | p.Gly20Ala                | Missense      | 1        |
| Ekson 1  | c.77T>C               | p.Leu26Pro                | Missense      | 2        |
| Ekson 1  | c.80T>C               | p.Ile27Thr                | Missense      | 1        |
| Ekson 1  | c.80T>G               | p.Ile27Ser                | Missense      | 1        |
| Ekson 1  | c.82C>T               | p.Gln28X                  | Nonsense      | 1        |
| Ekson 1  | c.98C>T               | p.Pro33Leu                | Missense      | 1        |
| Ekson 1  | c.202C>T              | p.Arg68Trp                | Missense      | 2        |
| Ekson 1  | c.206delG             | p.Gly69fs                 | Deletion      | 1        |
| Ekson 1  | c.217G>T              | p.Glu73X                  | Nonsense      | 1        |
| Ekson 1  | c.225C>A              | p.Asp75Glu                | Missense      | 1        |
| Ekson 1  | c.259A>T              | p.Lys87X                  | Nonsense      | 1        |
| Ekson 1  | c.282_283insT         | p.Glu95X                  | Nonsense      | 1        |
| Ekson 1  | c.319C>G              | p.Leu107Val               | Missense      | 1        |
| Ekson 1  | c.326delA             | p.Gln109fs                | Deletion      | 2        |
| Ekson 2  | c.346G>A              | p.Ala116Thr               | Missense      | 1        |
| Ekson 2  | c.368T>G              | p.Leu123Arg               | Missense      | 1        |
| Ekson 2  | c.396G>C              | p.Glu132Asp               | Missense      | 1        |
| Ekson 2  | c.397G>T              | p.Val133Leu               | Missense      | 1        |
| Ekson 2  | c.403G>A              | p.Asp135Asn               | Missense      | 1        |

|          |                |             |                 |   |
|----------|----------------|-------------|-----------------|---|
| Ekson 2  | c.410C>G       | p.Thr137Ser | Missesnse       | 1 |
| Ekson 2  | c.412G>A       | p.Gly138Ser | Missesnse       | 1 |
| Ekson 2  | c.427delC      | p.His143fs  | Deletion        | 1 |
| Ekson 2  | c.436_438dup   | p.Gln146dup | Insertion       | 1 |
| Ekson 2  | c.436C>T       | p.Gln146X   | Nonsense        | 1 |
| Ekson 2  | c.442C>A       | p.Leu148Ile | Missesnse       | 1 |
| Ekson 2  | c.447C>G       | p.Asn149Lys | Missesnse       | 1 |
| Ekson 2  | c.460A>G       | p.Met154Val | Missesnse       | 1 |
| Ekson 2  | c.461T>C       | p.Met154Thr | Missesnse       | 1 |
| Ekson 2  | c.461T>G       | p.Met154Arg | Missesnse       | 1 |
| Ekson 2  | c.517G>A       | p.Val173Met | Missesnse       | 1 |
| Ekson 2  | c.521C>T       | p.Ala174Val | Missesnse       | 1 |
| Ekson 2  | c.523C>T       | p.Gln175X   | Nonsense        | 1 |
| Intron 2 | c.526 + 1G>C   | -           | Splicing Defect | 4 |
| Intron 2 | c.526 + 5G>A   | -           | Splicing Defect | 1 |
| Ekson 3  | c.586A>G       | p.Thr196Ala | Missense        | 1 |
| Ekson 3  | c.614delA      | p.Lys205fs  | Deletion        | 2 |
| Ekson 3  | c.620_621insG  | p.Gly207fs  | Insertion       | 1 |
| Ekson 3  | c.650C>G       | p.Ala217Gly | Missense        | 1 |
| Ekson 3  | c.676A>G       | p.Lys226Glu | Missense        | 1 |
| Ekson 3  | c.682_683insG  | p.Glu228fs  | Insertion       | 1 |
| Ekson 3  | c.682G>A       | p.Glu228Lys | Missense        | 1 |
| Ekson 3  | c.696_697insA  | p.Val233fs  | Insertion       | 1 |
| Ekson 3  | c.704_705insA  | p.Cys236fs  | Insertion       | 1 |
| Ekson 3  | c.711_713+6del | p.Arg238fs  | Deletion        | 1 |
| Intron 3 | c.713+1G>C     | -           | Splicing Defect | 1 |
| Ekson 4  | c.715G>A       | p.Ala239Thr | Missesnse       | 1 |

|          |                  |             |                   |   |
|----------|------------------|-------------|-------------------|---|
| Ekson 4  | c.722G>A         | p.Cys241Tyr | Missesnse         | 1 |
| Ekson 4  | c.732A>T         | p.Arg244Ser | Missesnse         | 1 |
| Ekson 4  | c.732_733delAG   | p.Ser247fs  | Deletion          | 2 |
| Ekson 4  | c.737T>G         | p.Val246Gly | Missense          | 1 |
| Ekson 4  | c.746_747insC    | p.Gln250fs  | Insertion         | 1 |
| Ekson 4  | c.763G>A         | p.Gly255Ser | Missense          | 1 |
| Ekson 4  | c.785_786insT    | p.Arg263fs  | Insertion         | 1 |
| Ekson 4  | c.790G>T         | p.Val264Phe | Missesnse         | 1 |
| Ekson 4  | c.798C>G         | p.Asn266Lys | Missesnse         | 1 |
| Ekson 4  | c.814C>A         | p.Arg272Ser | Missesnse         | 2 |
| Ekson 4  | c.827C>G         | p.Ala276Gly | Missesnse         | 1 |
| Ekson 4  | c.842T>C         | p.Leu281Pro | Missesnse         | 2 |
| Ekson 4  | c.865C>T         | p.Pro289Ser | Missesnse         | 1 |
| Ekson 4  | c.871C>A         | p.Pro291Thr | Missense          | 1 |
| Ekson 4  | c.919delC        | p.Leu307fs  | Deletion          | 1 |
| Ekson 4  | c.923C>T         | p.Pro308Leu | Missense          | 1 |
| Intron 4 | c.955+2T>C       | -           | Splicing Deletion | 1 |
| Ekson 5  | c.959_962dupTGCG | p.Tyr322fs  | Insertion         | 1 |
| Ekson 5  | c.965A>G         | p.Tyr322Cys | Missesnse         | 2 |
| Ekson 5  | c.966T>G         | p.Tyr322X   | Nonsesnse         | 1 |
| Ekson 5  | c.970C>T         | p.Gln324X   | Nonsesnse         | 1 |
| Ekson 5  | c.984T>G         | p.Ser328Arg | Missesnse         | 1 |
| Ekson 5  | c.1017delT       | p.Leu341X   | Nonsesnse         | 1 |
| Ekson 5  | c.1059_1060insC  | p.Thr354fs  | Insertion         | 1 |
| Ekson 5  | c.1080_1081dupCA | p.Ser361fs  | Insertion         | 1 |
| Ekson 6  | c.1118C>G        | p.Ala373Gly | Missesnse         | 2 |
| Ekson 6  | c.1135C>A        | p.Pro379Thr | Missesnse         | 5 |

|          |                  |             |                 |   |
|----------|------------------|-------------|-----------------|---|
| Ekson 6  | c.1135C>G        | p.Pro379Ala | Missense        | 8 |
| Ekson 6  | c.1135C>T        | p.Pro379Ser | Missense        | 2 |
| Ekson 6  | c.1136delC       | p.Pro379fs  | Deletion        | 1 |
| Ekson 6  | c.1137_1138insT  | p.Val380fs  | Insertion       | 1 |
| Ekson 6  | c.1165T>G        | p.Leu389Val | Missense        | 5 |
| Ekson 6  | c.1195C>T        | p.Gln399X   | Nonsense        | 1 |
| Ekson 6  | c.1226C>A        | p.Pro409His | Missense        | 1 |
| Ekson 6  | c.1271C>T        | p.Pro424Leu | Missense        | 1 |
| Intron 7 | c.1502-2A>G      | -           | Splicing Defect | 3 |
| Intron 7 | c.1502-2A>T      | -           | Splicing Defect | 1 |
| Ekson 7  | c.1369_1383dup   | p.Val462fs  | Insertion       | 1 |
| Ekson 7  | c.1387C>T        | p.Gln463X   | Nonsense        | 1 |
| Ekson 7  | c.1394C>T        | p.Ser465Phe | Missense        | 1 |
| Ekson 7  | c.1400C>T        | p.Pro467Leu | Missense        | 2 |
| Ekson 7  | c.1394C>T        | p.Ser465Phe | Missense        | 1 |
| Ekson 7  | c.1400C>T        | p.Pro467Leu | Missense        | 2 |
| Ekson 7  | c.1421_1422insA  | p.Pro475fs  | Insertion       | 1 |
| Ekson 7  | c.1444_1445delAG | p.Ser482fs  | Deletion        | 2 |
| Ekson 7  | c.1465T>G        | p.Phe489Val | Missense        | 1 |
| Ekson 7  | c.1495C>T        | p.Pro499Ser | Missense        | 1 |
| Ekson 7  | c.1498C>A        | p.His500Asn | Missense        | 1 |
| Ekson 8  | c.1509C>A        | p.Tyr503X   | Nonsense        | 3 |
| Ekson 8  | c.1513C>A        | p.His505Asn | Missense        | 3 |
| Ekson 8  | c.1522G>A        | p.Glu508lys | Missense        | 1 |
| Ekson 8  | c.1537A>T        | p.Thr513Ser | Missense        | 1 |
| Ekson 8  | c.1544C>A        | p.Thr515Lys | Missense        | 1 |
| Ekson 8  | c.1573A>T        | p.Thr525Ser | Missense        | 1 |

|          |                    |                    |                 |   |
|----------|--------------------|--------------------|-----------------|---|
| Ekson 8  | c.1574C>T          | p.Thr525Ile        | Missense        | 1 |
| Ekson 8  | c.1576G>A          | p.Asp526Asn        | Missense        | 1 |
| Ekson 8  | c.1576G>T          | p.Asp526Tyr        | Missense        | 1 |
| Ekson 8  | c.1587_1588insA    | p.Asn529fs         | Insertion       | 1 |
| Ekson 8  | c.1611_1614delGCCC | p.Pro538fs         | Deletion        | 1 |
| Intron 8 | c.1623+2T>C        | -                  | Splicing Defect | 1 |
| Ekson 9  | c.1637A>G          | p.Asp546Gly        | Missense        | 1 |
| Ekson 9  | c.1663C>T          | p.Leu555Phe        | Missense        | 1 |
| Ekson 9  | c.1670_1685dup     | p.Thr557_Ala562dup | Insertion       | 1 |
| Ekson 9  | c.1673_1674insC    | p.Ala559fs         | Insertion       | 1 |
| Ekson 9  | c.1762C>T          | p.Pro588Ser        | Missense        | 1 |
| Ekson 10 | c.1840_1841delAA   | p.Asn614fs         | Deletion        | 1 |
| Ekson 10 | c.1853_1854delTC   | p.Ile618fs         | Deletion        | 1 |
| Ekson 10 | c.1864_1890dup     | p.Ile622_Ser630dup | Insertion       | 1 |

Ek 5 HGMD veri bankasında bulunan missense mutasyonların listesi

| Erişim Numarası | Kodon Değişimi | Aminoasit Değişimi | Kodon Numarası | Fenotip         |
|-----------------|----------------|--------------------|----------------|-----------------|
| CM082819        | <b>ATG-CTG</b> | <b>Met-Leu</b>     | 1              | Diyabet, MODY3  |
| CM085467        | <b>AGC-AAC</b> | <b>Ser-Asn</b>     | 6              | Diyabet, MODY   |
| CM971440        | <b>CAG-TAG</b> | <b>Gln-Tern</b>    | 7              | Diyabet, MODY3  |
| CM082862        | <b>CTG-ATG</b> | <b>Leu-Met</b>     | 8              | Diyabet, MODY3  |
| CM064305        | <b>CAG-CCG</b> | <b>Gln-Pro</b>     | 9              | Diyabet, MODY   |
| CM064303        | <b>ACG-ATG</b> | <b>Thr-Met</b>     | 10             | Diyabet, MODY   |
| CM971441        | <b>CTC-CAC</b> | <b>Leu-His</b>     | 12             | Diyabet, MODY3  |
| CM052920        | <b>CTC-TTC</b> | <b>Leu-Phe</b>     | 12             | Diyabet, MODY   |
| CM082857        | <b>GCG-GTG</b> | <b>Ala-Val</b>     | 14             | Diyabet, MODY3  |
| CM082861        | <b>CTC-GTC</b> | <b>Leu-Val</b>     | 17             | Diyabet, MODY3  |
| CM993815        | <b>GGG-AGG</b> | <b>Gly-Arg</b>     | 20             | Diyabet, MODY   |
| CM082867        | <b>GGG-GCG</b> | <b>Gly-Ala</b>     | 20             | Diyabet, MODY3  |
| CM052000        | <b>GCA-CCA</b> | <b>Ala-Pro</b>     | 25             | Diyabet, MODY   |
| CM082844        | <b>CTG-CCG</b> | <b>Leu-Pro</b>     | 26             | Diyabet, MODY3  |
| CM082811        | <b>ATC-ACC</b> | <b>Ile-Thr</b>     | 27             | Diyabet, MODY3  |
| CM082812        | <b>ATC-AGC</b> | <b>Ile-Ser</b>     | 27             | Diyabet, MODY3  |
| CM001349        | <b>ATC-CTC</b> | <b>Ile-Leu</b>     | 27             | İnsülin Direnci |
| CM082824        | <b>CAG-TAG</b> | <b>Gln-Tern</b>    | 28             | Diyabet, MODY3  |
| CM981894        | <b>GGT-GAT</b> | <b>Gly-Asp</b>     | 31             | Diyabet, MODY3  |
| CM082832        | <b>CCG-CTG</b> | <b>Pro-Leu</b>     | 33             | Diyabet, MODY3  |
| CM104908        | <b>GAA-TAA</b> | <b>Glu-Tern</b>    | 41             | Diabetes, MODY3 |
| CM030524        | <b>GGG-GAG</b> | <b>Gly-Glu</b>     | 47             | Diabetes, MODY  |

|          |                |                 |     |                                  |
|----------|----------------|-----------------|-----|----------------------------------|
| CM981895 | <b>GAG-AAG</b> | <b>Glu-Lys</b>  | 48  | Diabetes, MODY3                  |
| CM109043 | <b>GAG-GAT</b> | <b>Glu-Asp</b>  | 48  | Diabetes, MODY3                  |
| CM032035 | <b>CGA-TGA</b> | <b>Arg-Tern</b> | 54  | Diabetes, MODY3                  |
| CM064300 | <b>AAT-AGT</b> | <b>Asn-Ser</b>  | 62  | Diabetes, MODY                   |
| CM082876 | <b>CGG-TGG</b> | <b>Arg-Trp</b>  | 68  | Diabetes, MODY3                  |
| CM082842 | <b>GAG-TAG</b> | <b>Glu-Tern</b> | 73  | Diabetes, MODY3                  |
| CM082850 | <b>GAC-GAA</b> | <b>Asp-Glu</b>  | 75  | Diabetes, MODY3                  |
| CM067041 | <b>ACG-ATG</b> | <b>Thr-Met</b>  | 82  | Diabetes, MODY3                  |
| CM082815 | <b>AAA-TAA</b> | <b>Lys-Tern</b> | 87  | Diabetes, MODY3                  |
| CM971442 | <b>GCC-GTC</b> | <b>Ala-Val</b>  | 98  | Serum C-peptit ve insülin yanıtı |
| CM993621 | <b>CTT-ATT</b> | <b>Leu-Ile</b>  | 107 | Diabetes, MODY3                  |
| CM971443 | <b>CTT-CGT</b> | <b>Leu-Arg</b>  | 107 | Diabetes, MODY3                  |
| CM082838 | <b>CTT-GTT</b> | <b>Leu-Val</b>  | 107 | Diabetes, MODY3                  |
| CM004772 | <b>CCG-CTG</b> | <b>Pro-Leu</b>  | 112 | Diabetes, MODY                   |
| CM013294 | <b>TGG-TGA</b> | <b>Trp-Tern</b> | 113 | Tip 2 Diyabet                    |
| CM093340 | <b>CGT-TGT</b> | <b>Arg-Cys</b>  | 114 | Diabetes, MODY                   |
| CM064316 | <b>GTG-TTG</b> | <b>Val-Leu</b>  | 115 | Diabetes, MODY                   |
| CM082865 | <b>GCG-ACG</b> | <b>Ala-Thr</b>  | 116 | Diabetes, MODY3                  |
| CM015315 | <b>GCG-GTG</b> | <b>Ala-Val</b>  | 116 | Diabetes, MODY                   |
| CM991165 | <b>AAG-GAG</b> | <b>Lys-Glu</b>  | 117 | Diabetes, MODY3                  |
| CM971444 | <b>TAC-TGC</b> | <b>Tyr-Cys</b>  | 122 | Diabetes, MODY3                  |
| CM085468 | <b>CTG-CCG</b> | <b>Leu-Pro</b>  | 123 | Diabetes, MODY3                  |
| CM082846 | <b>CTG-CGG</b> | <b>Leu-Arg</b>  | 123 | Diabetes, MODY3                  |
| CM052919 | <b>CAG-TAG</b> | <b>Gln-Tern</b> | 124 | Diabetes, MODY                   |
| CM971445 | <b>ATC-AAC</b> | <b>Ile-Asn</b>  | 128 | Diabetes, MODY3                  |

|          |                |                 |     |                 |
|----------|----------------|-----------------|-----|-----------------|
| CM971446 | <b>CCA-ACA</b> | <b>Pro-Thr</b>  | 129 | Diabetes, MODY3 |
| CM067042 | <b>CAG-CAT</b> | <b>Gln-His</b>  | 130 | Diabetes, MODY3 |
| CM112114 | <b>CAG-TAG</b> | <b>Gln-Tern</b> | 130 | Diabetes, MODY3 |
| CM961361 | <b>CGG-CAG</b> | <b>Arg-Gln</b>  | 131 | Diabetes, MODY3 |
| CM971447 | <b>CGG-TGG</b> | <b>Arg-Trp</b>  | 131 | Diabetes, MODY3 |
| CM020514 | <b>GAG-AAG</b> | <b>Glu-Lys</b>  | 132 | Diabetes, MODY  |
| CM082851 | <b>GAG-GAC</b> | <b>Glu-Asp</b>  | 132 | Diabetes, MODY3 |
| CM002110 | <b>GTG-ATG</b> | <b>Val-Met</b>  | 133 | Diabetes, MODY3 |
| CM082870 | <b>GTG-TTG</b> | <b>Val-Leu</b>  | 133 | Diabetes, MODY3 |
| CM093341 | <b>GTC-GTT</b> | <b>Val-Val</b>  | 134 | Diabetes, MODY  |
| CM082843 | <b>GAT-AAT</b> | <b>Asp-Asn</b>  | 135 | Diabetes, MODY3 |
| CM082808 | <b>ACT-AGT</b> | <b>Thr-Ser</b>  | 137 | Diabetes, MODY3 |
| CM082878 | <b>GGC-AGC</b> | <b>Gly-Ser</b>  | 138 | Diabetes, MODY3 |
| CM971448 | <b>TCC-TTC</b> | <b>Ser-Phe</b>  | 142 | Diabetes, MODY3 |
| CM971449 | <b>CAC-TAC</b> | <b>His-Tyr</b>  | 143 | Diabetes, MODY3 |
| CM064314 | <b>TCC-TTC</b> | <b>Ser-Phe</b>  | 145 | Diabetes, MODY  |
| CM082821 | <b>CAA-TAA</b> | <b>Gln-Tern</b> | 146 | Diabetes, MODY3 |
| CM082837 | <b>CTC-ATC</b> | <b>Leu-Ile</b>  | 148 | Diabetes, MODY3 |
| CM082802 | <b>AAC-AAG</b> | <b>Asn-Lys</b>  | 149 | Diabetes, MODY3 |
| CM064299 | <b>AAG-AAT</b> | <b>Lys-Asn</b>  | 150 | Diabetes, MODY  |
| CM082813 | <b>ATG-ACG</b> | <b>Met-Thr</b>  | 154 | Diabetes, MODY3 |
| CM082814 | <b>ATG-AGG</b> | <b>Met-Arg</b>  | 154 | Diabetes, MODY3 |
| CM082820 | <b>ATG-GTG</b> | <b>Met-Val</b>  | 154 | Diabetes, MODY3 |
| CM991166 | <b>AAG-AAT</b> | <b>Lys-Asn</b>  | 158 | Diabetes, MODY3 |
| CM064309 | <b>AAG-TAG</b> | <b>Lys-Tern</b> | 158 | Diabetes, MODY  |

|          |                |                 |     |                 |
|----------|----------------|-----------------|-----|-----------------|
| CM971450 | <b>CGG-CAG</b> | <b>Arg-Gln</b>  | 159 | Diabetes, MODY3 |
| CM067043 | <b>CGG-GGG</b> | <b>Arg-Gly</b>  | 159 | Tip 2 Diyabet   |
| CM981896 | <b>CGG-TGG</b> | <b>Arg-Trp</b>  | 159 | Diabetes, MODY3 |
| CM981897 | <b>GCC-ACC</b> | <b>Ala-Thr</b>  | 161 | Diabetes, MODY3 |
| CM112115 | <b>CTG-CCG</b> | <b>Leu-Pro</b>  | 162 | Diabetes, MODY3 |
| CM064306 | <b>CGC-CCC</b> | <b>Arg-Pro</b>  | 168 | Diabetes, MODY  |
| CM093342 | <b>CGA-GGA</b> | <b>Arg-Gly</b>  | 171 | Diabetes, MODY  |
| CM971451 | <b>CGA-TGA</b> | <b>Arg-Tern</b> | 171 | Diabetes, MODY3 |
| CM082869 | <b>GTG-ATG</b> | <b>Val-Met</b>  | 173 | Diabetes, MODY3 |
| CM082858 | <b>GCG-GTG</b> | <b>Ala-Val</b>  | 174 | Diabetes, MODY3 |
| CM082852 | <b>CAG-TAG</b> | <b>Gln-Tern</b> | 175 | Diabetes, MODY3 |
| CM024749 | <b>CAG-TAG</b> | <b>Gln-Tern</b> | 176 | Diabetes, MODY3 |
| CM971452 | <b>GGT-GAT</b> | <b>Gly-Asp</b>  | 191 | Diabetes, MODY3 |
| CM082803 | <b>ACC-GCC</b> | <b>Thr-Ala</b>  | 196 | Diabetes, MODY3 |
| CM981898 | <b>CGG-CAG</b> | <b>Arg-Gln</b>  | 200 | Diabetes, MODY3 |
| CM030525 | <b>CGG-GGG</b> | <b>Arg-Gly</b>  | 200 | Diabetes, MODY  |
| CM981899 | <b>CGG-TGG</b> | <b>Arg-Trp</b>  | 200 | Diabetes, MODY3 |
| CM993816 | <b>CGT-CAT</b> | <b>Arg-His</b>  | 203 | Diabetes, MODY  |
| CM109044 | <b>CGT-GGT</b> | <b>Arg-Gly</b>  | 203 | Diabetes, MODY3 |
| CM991167 | <b>CGT-TGT</b> | <b>Arg-Cys</b>  | 203 | Diabetes, MODY3 |
| CM971453 | <b>AAG-CAG</b> | <b>Lys-Gln</b>  | 205 | Diabetes, MODY3 |
| CM064312 | <b>GGC-GAC</b> | <b>Gly-Asp</b>  | 207 | Diabetes, MODY  |
| CM087902 | <b>ATC-ACC</b> | <b>Ile-Thr</b>  | 213 | Diabetes, MODY3 |
| CM082854 | <b>GCC-GGC</b> | <b>Ala-Gly</b>  | 217 | Diabetes, MODY3 |
| CM003341 | <b>TAT-TGT</b> | <b>Tyr-Cys</b>  | 218 | Diabetes, MODY3 |

|          |                |                 |     |                 |
|----------|----------------|-----------------|-----|-----------------|
| CM044720 | <b>CCT-TCT</b> | <b>Pro-Ser</b>  | 224 | Diabetes, MODY3 |
| CM082816 | <b>AAG-GAG</b> | <b>Lys-Glu</b>  | 226 | Diabetes, MODY3 |
| CM082864 | <b>GAG-AAG</b> | <b>Glu-Lys</b>  | 228 | Diabetes, MODY3 |
| CM971454 | <b>CGA-CAA</b> | <b>Arg-Gln</b>  | 229 | Diabetes, MODY3 |
| CM002864 | <b>CGA-CCA</b> | <b>Arg-Pro</b>  | 229 | Diabetes, MODY3 |
| CM971455 | <b>CGA-TGA</b> | <b>Arg-Tern</b> | 229 | Diabetes, MODY3 |
| CM023587 | <b>GTG-CTG</b> | <b>Val-Leu</b>  | 233 | Diabetes, MODY  |
| CM002865 | <b>GAG-TAG</b> | <b>Glu-Tern</b> | 234 | Diabetes, MODY3 |
| CM093343 | <b>GAG-CAG</b> | <b>Glu-Gln</b>  | 235 | Diabetes, MODY  |
| CM109039 | <b>GAG-GGG</b> | <b>Glu-Gly</b>  | 235 | Diabetes, MODY3 |
| CM064315 | <b>TGC-TGA</b> | <b>Cys-Tern</b> | 236 | Diabetes, MODY  |
| CM082866 | <b>GCG-ACG</b> | <b>Ala-Thr</b>  | 239 | Diabetes, MODY3 |
| CM023588 | <b>GCG-GTG</b> | <b>Ala-Val</b>  | 239 | Diabetes, MODY  |
| CM025351 | <b>GAA-CAA</b> | <b>Glu-Gln</b>  | 240 | Diabetes, MODY3 |
| CM981900 | <b>TGC-CGC</b> | <b>Cys-Arg</b>  | 241 | Diabetes, MODY3 |
| CM971456 | <b>TGC-GGC</b> | <b>Cys-Gly</b>  | 241 | Diabetes, MODY3 |
| CM082877 | <b>TGC-TAC</b> | <b>Cys-Tyr</b>  | 241 | Diabetes, MODY3 |
| CM050751 | <b>CAG-GAG</b> | <b>Gln-Glu</b>  | 243 | Diabetes, MODY3 |
| CM082809 | <b>AGA-AGT</b> | <b>Arg-Ser</b>  | 244 | Diabetes, MODY3 |
| CM112116 | <b>AGA-ATA</b> | <b>Arg-Ile</b>  | 244 | Diabetes, MODY3 |
| CM093344 | <b>GGG-AGG</b> | <b>Gly-Arg</b>  | 245 | Diabetes, MODY  |
| CM082871 | <b>GTG-GGG</b> | <b>Val-Gly</b>  | 246 | Diabetes, MODY3 |
| CM064313 | <b>GTG-TTG</b> | <b>Val-Leu</b>  | 246 | Diabetes, MODY  |
| CM087210 | <b>TCA-CCA</b> | <b>Ser-Pro</b>  | 249 | Diabetes, MODY  |
| CM023457 | <b>CAG-TAG</b> | <b>Gln-Tern</b> | 250 | Diabetes, MODY  |

|          |                |                 |     |                 |
|----------|----------------|-----------------|-----|-----------------|
| CM067045 | <b>GGG-GGT</b> | <b>Gly-Gly</b>  | 253 | Diabetes, MODY3 |
| CM020515 | <b>CTG-ATG</b> | <b>Leu-Met</b>  | 254 | Diabetes, MODY  |
| CM082868 | <b>GGC-AGC</b> | <b>Gly-Ser</b>  | 255 | Diabetes, MODY3 |
| CM030526 | <b>TCC-ACC</b> | <b>Ser-Thr</b>  | 256 | Diabetes, MODY  |
| CM087211 | <b>AAC-ACC</b> | <b>Asn-Thr</b>  | 257 | Diabetes, MODY  |
| CM002111 | <b>GTC-GAC</b> | <b>Val-Asp</b>  | 259 | Diabetes, MODY3 |
| CM064308 | <b>GTC-TTC</b> | <b>Val-Phe</b>  | 259 | Diabetes, MODY  |
| CM971457 | <b>ACG-ATG</b> | <b>Thr-Met</b>  | 260 | Diabetes, MODY3 |
| CM064311 | <b>GAG-AAG</b> | <b>Glu-Lys</b>  | 261 | Diabetes, MODY  |
| CM064307 | <b>CGT-CAT</b> | <b>Arg-His</b>  | 263 | Diabetes, MODY  |
| CM031753 | <b>CGT-CTT</b> | <b>Arg-Leu</b>  | 263 | Diabetes, MODY3 |
| CM971458 | <b>CGT-TGT</b> | <b>Arg-Cys</b>  | 263 | Diabetes, MODY3 |
| CM082879 | <b>GTC-TTC</b> | <b>Val-Phe</b>  | 264 | Diabetes, MODY3 |
| CM082804 | <b>AAC-AAG</b> | <b>Asn-Lys</b>  | 266 | Diabetes, MODY3 |
| CM056063 | <b>TGG-AGG</b> | <b>Trp-Arg</b>  | 267 | Diabetes, MODY3 |
| CM016020 | <b>TGG-TGA</b> | <b>Trp-Tern</b> | 267 | Diabetes, MODY  |
| CM100897 | <b>TTT-CTT</b> | <b>Phe-Leu</b>  | 268 | Diabetes, MODY  |
| CM045553 | <b>TTT-TCT</b> | <b>Phe-Ser</b>  | 268 | Diabetes, MODY3 |
| CM112117 | <b>GCC-CCC</b> | <b>Ala-Pro</b>  | 269 | Diabetes, MODY3 |
| CM023589 | <b>CGG-CAG</b> | <b>Arg-Gln</b>  | 271 | Diabetes, MODY  |
| CM021357 | <b>CGG-GGG</b> | <b>Arg-Gly</b>  | 271 | Diabetes, MODY  |
| CM981901 | <b>CGG-TGG</b> | <b>Arg-Trp</b>  | 271 | Diabetes, MODY3 |
| CM082859 | <b>CGC-AGC</b> | <b>Arg-Ser</b>  | 272 | Diabetes, MODY3 |
| CM971459 | <b>CGC-CAC</b> | <b>Arg-His</b>  | 272 | Diabetes, MODY3 |
| CM991168 | <b>CGC-TGC</b> | <b>Arg-Cys</b>  | 272 | Tip 2 Diyabet   |

|          |                |                 |     |                   |
|----------|----------------|-----------------|-----|-------------------|
| CM064298 | <b>AAA-AAC</b> | <b>Lys-Asn</b>  | 273 | Diabetes, MODY    |
| CM030527 | <b>GCC-GAC</b> | <b>Ala-Asp</b>  | 276 | Diabetes, MODY    |
| CM082855 | <b>GCC-GGC</b> | <b>Ala-Gly</b>  | 276 | Diabetes, MODY3   |
| CM082845 | <b>CTG-CCG</b> | <b>Leu-Pro</b>  | 281 | Diabetes, MODY3   |
| CM067044 | <b>GGG-GGC</b> | <b>Gly-Gly</b>  | 288 | Diabetes, MODY3 ? |
| CM002866 | <b>CCC-CGC</b> | <b>Pro-Arg</b>  | 289 | Diabetes, MODY3   |
| CM082856 | <b>CCC-TCC</b> | <b>Pro-Ser</b>  | 289 | Diabetes, MODY3   |
| CM082826 | <b>CCA-ACA</b> | <b>Pro-Thr</b>  | 291 | Diabetes, MODY3   |
| CM100898 | <b>CCA-TCA</b> | <b>Pro-Ser</b>  | 291 | Diabetes, MODY    |
| CM995176 | <b>GCT-ACT</b> | <b>Ala-Thr</b>  | 301 | Tip 2 Diyabet     |
| CM082835 | <b>CCT-CTT</b> | <b>Pro-Leu</b>  | 308 | Diabetes, MODY3   |
| CM050752 | <b>GCC-GAC</b> | <b>Ala-Asp</b>  | 311 | Diabetes, MODY3   |
| CM993622 | <b>GGT-AGT</b> | <b>Gly-Ser</b>  | 319 | Tip 2 Diyabet     |
| CM045552 | <b>CGC-CAC</b> | <b>Arg-His</b>  | 321 | Diabetes, MODY3   |
| CM082874 | <b>TAT-TAG</b> | <b>Tyr-Tern</b> | 322 | Diabetes, MODY3   |
| CM082873 | <b>TAT-TGT</b> | <b>Tyr-Cys</b>  | 322 | Diabetes, MODY3   |
| CM082805 | <b>CAG-TAG</b> | <b>Gln-Tern</b> | 324 | Diabetes, MODY3   |
| CM082810 | <b>AGT-AGG</b> | <b>Ser-Arg</b>  | 328 | Diabetes, MODY3   |
| CM112118 | <b>TCA-TGA</b> | <b>Ser-Tern</b> | 335 | Diabetes, MODY3   |
| CM002867 | <b>ACG-ATG</b> | <b>Thr-Met</b>  | 354 | Diabetes, MODY3   |
| CM082860 | <b>GCT-GGT</b> | <b>Ala-Gly</b>  | 373 | Diabetes, MODY3   |
| CM082829 | <b>CCT-ACT</b> | <b>Pro-Thr</b>  | 379 | Diabetes, MODY3   |
| CM056993 | <b>CCT-CAT</b> | <b>Pro-His</b>  | 379 | Diabetes, MODY    |
| CM050753 | <b>CCT-CGT</b> | <b>Pro-Arg</b>  | 379 | Diabetes, MODY3   |
| CM082830 | <b>CCT-GCT</b> | <b>Pro-Ala</b>  | 379 | Diabetes, MODY3   |

|          |                |                 |     |                                |
|----------|----------------|-----------------|-----|--------------------------------|
| CM082831 | <b>CCT-TCT</b> | <b>Pro-Ser</b>  | 379 | Diabetes, MODY3                |
| CM082848 | <b>TTG-GTG</b> | <b>Leu-Val</b>  | 389 | Diabetes, MODY3                |
| CM112119 | <b>CAG-TAG</b> | <b>Gln-Tern</b> | 398 | Diabetes, MODY3                |
| CM082853 | <b>CAG-TAG</b> | <b>Gln-Tern</b> | 399 | Diabetes, MODY3                |
| CM082834 | <b>CCT-CAT</b> | <b>Pro-His</b>  | 409 | Diabetes, MODY3                |
| CM064304 | <b>ATG-ACG</b> | <b>Met-Thr</b>  | 412 | Diabetes, MODY                 |
| CM993760 | <b>GGG-CGG</b> | <b>Gly-Arg</b>  | 415 | Tip 1 Diyabet                  |
| CM082836 | <b>CCT-CTT</b> | <b>Pro-Leu</b>  | 424 | Diabetes, MODY3                |
| CM993817 | <b>TCC-TGC</b> | <b>Ser-Cys</b>  | 432 | Diabetes, MODY                 |
| CM002868 | <b>ACC-ATC</b> | <b>Thr-Ile</b>  | 433 | Diabetes, MODY3                |
| CM064310 | <b>CAG-TAG</b> | <b>Gln-Tern</b> | 442 | Diabetes, MODY                 |
| CM961362 | <b>CCG-CTG</b> | <b>Pro-Leu</b>  | 447 | Diabetes, MODY3                |
| CM064301 | <b>ACC-ATC</b> | <b>Thr-Ile</b>  | 457 | Diabetes, MODY                 |
| CM082825 | <b>CAG-TAG</b> | <b>Gln-Tern</b> | 463 | Diabetes, MODY3                |
| CM082875 | <b>TCC-TTC</b> | <b>Ser-Phe</b>  | 465 | Diabetes, MODY3                |
| CM004773 | <b>CAG-TAG</b> | <b>Gln-Tern</b> | 466 | Diabetes, MODY                 |
| CM082833 | <b>CCG-CTG</b> | <b>Pro-Leu</b>  | 467 | Diabetes, MODY3                |
| CM112120 | <b>CAG-TAG</b> | <b>Gln-Tern</b> | 473 | Diabetes, MODY3                |
| CM016019 | <b>CAG-TAG</b> | <b>Gln-Tern</b> | 474 | Diabetes, MODY                 |
| CM092844 | <b>CCG-CTG</b> | <b>Pro-Leu</b>  | 475 | Tip 2 ve Erişkin Diyabet       |
| CM002869 | <b>CAG-TAG</b> | <b>Gln-Tern</b> | 486 | Diabetes, MODY3                |
| CM067474 | <b>AGC-AAC</b> | <b>Ser-Asn</b>  | 487 | Kardiyovasküler hastalık riski |
| CM082847 | <b>TTC-GTC</b> | <b>Phe-Val</b>  | 489 | Diabetes, MODY3                |
| CM995174 | <b>ACC-ATC</b> | <b>Thr-Ile</b>  | 492 | Tip 2 Diyabet                  |
| CM112121 | <b>CAG-TAG</b> | <b>Gln-Tern</b> | 495 | Diabetes, MODY3                |

|          |                |                 |     |                 |
|----------|----------------|-----------------|-----|-----------------|
| CM995175 | <b>AGC-AGA</b> | <b>Ser-Arg</b>  | 498 | Tip 2 Diyabet   |
| CM082827 | <b>CCC-TCC</b> | <b>Pro-Ser</b>  | 499 | Diabetes, MODY3 |
| CM082822 | <b>CAC-AAC</b> | <b>His-Asn</b>  | 500 | Diabetes, MODY3 |
| CM035682 | <b>GCC-ACC</b> | <b>Ala-Thr</b>  | 501 | Diabetes, MODY  |
| CM082872 | <b>TAC-TAA</b> | <b>Tyr-Tern</b> | 503 | Diabetes, MODY3 |
| CM082823 | <b>CAC-AAC</b> | <b>His-Asn</b>  | 505 | Diabetes, MODY3 |
| CM082841 | <b>GAG-AAG</b> | <b>Glu-Lys</b>  | 508 | Diabetes, MODY3 |
| CM112122 | <b>GAG-TAG</b> | <b>Glu-Tern</b> | 508 | Diabetes, MODY3 |
| CM082817 | <b>ACC-TCC</b> | <b>Thr-Ser</b>  | 513 | Diabetes, MODY3 |
| CM013295 | <b>CAC-CGC</b> | <b>His-Arg</b>  | 514 | Tip 2 Diyabet   |
| CM082807 | <b>ACG-AAG</b> | <b>Thr-Lys</b>  | 515 | Diabetes, MODY3 |
| CM971460 | <b>CCG-CTG</b> | <b>Pro-Leu</b>  | 519 | Diabetes, MODY3 |
| CM023590 | <b>ACT-ATT</b> | <b>Thr-Ile</b>  | 521 | Diabetes, MODY  |
| CM112123 | <b>ACT-GCT</b> | <b>Thr-Ala</b>  | 521 | Diabetes, MODY3 |
| CM030528 | <b>ATG-GTG</b> | <b>Met-Val</b>  | 522 | Diabetes, MODY  |
| CM082806 | <b>ACC-ATC</b> | <b>Thr-Ile</b>  | 525 | Diabetes, MODY3 |
| CM082818 | <b>ACC-TCC</b> | <b>Thr-Ser</b>  | 525 | Diabetes, MODY3 |
| CM082839 | <b>GAC-AAC</b> | <b>Asp-Asn</b>  | 526 | Diabetes, MODY3 |
| CM082840 | <b>GAC-TAC</b> | <b>Asp-Tyr</b>  | 526 | Diabetes, MODY3 |
| CM064302 | <b>ACC-ATC</b> | <b>Thr-Ile</b>  | 528 | Diabetes, MODY  |
| CM030529 | <b>AGC-ACC</b> | <b>Ser-Thr</b>  | 531 | Diabetes, MODY  |
| CM981902 | <b>ACG-AGG</b> | <b>Thr-Arg</b>  | 537 | Diabetes, MODY3 |
| CM082849 | <b>GAC-GGC</b> | <b>Asp-Gly</b>  | 546 | Diabetes, MODY3 |
| CM082863 | <b>CTT-TTT</b> | <b>Leu-Phe</b>  | 555 | Diabetes, MODY3 |
| CM056410 | <b>CAG-TAG</b> | <b>Gln-Tern</b> | 561 | Diabetes, MODY  |

|          |                |                |     |                 |
|----------|----------------|----------------|-----|-----------------|
| CM023591 | <b>GTC-ATC</b> | <b>Val-Ile</b> | 567 | Diabetes, MODY  |
| CM020516 | <b>GGC-AGC</b> | <b>Gly-Ser</b> | 574 | Tip 2 Diyabet   |
| CM020517 | <b>CGG-CAG</b> | <b>Arg-Gln</b> | 583 | Diabetes, MODY  |
| CM971461 | <b>CGG-GGG</b> | <b>Arg-Gly</b> | 583 | Diabetes, MODY3 |
| CM082828 | <b>CCC-TCC</b> | <b>Pro-Ser</b> | 588 | Diabetes, MODY3 |
| CM020518 | <b>AGC-ATC</b> | <b>Ser-Ile</b> | 594 | Diabetes, MODY  |
| CM023592 | <b>GTC-ATC</b> | <b>Val-Ile</b> | 617 | Diabetes, MODY  |
| CM993818 | <b>ATC-ATG</b> | <b>Ile-Met</b> | 618 | Diabetes, MODY  |
| CM981903 | <b>GAG-AAG</b> | <b>Glu-Lys</b> | 619 | Diabetes, MODY3 |
| CM971462 | <b>ACC-ATC</b> | <b>Thr-Ile</b> | 620 | Diabetes, MODY3 |

Ek 6 HGMD veri bankasında bulunan “splicing” bölge mutasyonların listesi

| Erişim Numarası | HGMD “splicing” mutasyonu | Fenotip         |
|-----------------|---------------------------|-----------------|
| CS064457        | <b>IVS1 as -1 G-A</b>     | Diabetes, MODY  |
| CS016021        | <b>IVS2 ds +1 G-A</b>     | Diabetes, MODY  |
| CS083233        | <b>IVS2 ds +1 G-C</b>     | Diabetes, MODY3 |
| CS083232        | <b>IVS2 ds +5 G-A</b>     | Diabetes, MODY3 |
| CS066655        | <b>IVS2 as -51 A-T</b>    | Tip 2 Diyabet   |
| CS993819        | <b>IVS2 as -1 G-A</b>     | Diabetes, MODY  |
| CS083234        | <b>IVS3 ds +1 G-C</b>     | Diabetes, MODY3 |
| CS030566        | <b>IVS3 as -1 G-A</b>     | Diabetes, MODY  |
| CS083235        | <b>IVS4 ds +2 T-C</b>     | Diabetes, MODY3 |
| CS016022        | <b>IVS4 as -2 A-G</b>     | Diabetes, MODY  |
| CS091671        | <b>IVS4 as -1 G-T</b>     | Diabetes, MODY3 |
| CS982381        | <b>IVS5 ds +2 T-A</b>     | Diabetes, MODY3 |
| CS961700        | <b>IVS5 as -2 A-G</b>     | Diabetes, MODY3 |
| CS087903        | <b>IVS7 ds +1 G-T</b>     | Diabetes, MODY3 |
| CS024751        | <b>IVS7 as -6 G-A</b>     | Diabetes, MODY3 |
| CS083236        | <b>IVS7 as -2 A-G</b>     | Diabetes, MODY3 |
| CS083237        | <b>IVS7 as -2 A-T</b>     | Diabetes, MODY3 |
| CS016023        | <b>IVS8 ds +1 G-A</b>     | Diabetes, MODY  |
| CS083238        | <b>IVS8 ds +2 T-C</b>     | Diabetes, MODY3 |
| CS083239        | <b>IVS8 as -1 G-A</b>     | Diabetes, MODY3 |
| CS961701        | <b>IVS9 ds +1 G-A</b>     | Diabetes, MODY3 |
| CS016024        | <b>IVS9 as -1 G-A</b>     | Diabetes, MODY  |

Ek 7 HGMD veri bankasında bulunan delesyon mutasyonların listesi

| Erişim Numarası | HGMD Delesyon Mutasyonları                              | Fenotip         |
|-----------------|---------------------------------------------------------|-----------------|
| CD112124        | GGGCTG <sup>{22}</sup> AGCAaaGAGGCACTGA                 | Diabetes, MODY3 |
| CD025353        | GCTGAGC <sup>{23}</sup> AAAGaGGCACTGATC                 | Diabetes, MODY  |
| CD025354        | GGAGAA <sup>{42}</sup> GGCCcCCTGGACAAG                  | Diabetes, MODY  |
| CD013206        | CTGGAC <sup>{46}</sup> AAGGgGGAGTCCTGC                  | Tip 1 Diyabet   |
| CD972458        | GGCGGC <sup>{53}</sup> GGTCgagggGAGCTGGCTG              | Diabetes, MODY3 |
| CD083322        | GGAGACT <sup>{68}</sup> CGGgGCTCCGAGGA                  | Diabetes, MODY3 |
| CD083312        | ACCCCTT <sup>{108}</sup> CTGCa_E1I1_GTAAGGAGCC          | Diabetes, MODY3 |
| CD002192        | TGGTC <sup>{120}</sup> AAGTCcTACCTGCAGC                 | Diabetes, MODY3 |
| CD020597        | GCAGCAG <sup>{126}</sup> CACaacATCCACAGC                | Diabetes, MODY  |
| CD064650        | AGCGG <sup>{132}</sup> GAGGTggtcgatACCACTGGCC           | Diabetes, MODY  |
| CD016027        | GAGGTG <sup>{134}</sup> GTCGaTACCACTGGC                 | Diabetes, MODY  |
| CD083323        | TCAAC <sup>{141}</sup> CAGTCcCACCTGTCCC                 | Diabetes, MODY3 |
| CD076809        | CGAGAG <sup>{173}</sup> GTGGcgcagc_E2I2_gtaagTAATGACCCT | Diabetes, MODY3 |
| CD030620        | GAGCTA <sup>{195}</sup> CCAAccaaGAAGGGGCGG              | Diabetes, MODY  |
| CD083311        | AACCGT <sup>{204}</sup> TTCAaGTGGGGCCCA                 | Diabetes, MODY3 |
| CD016026        | AGAAC <sup>{224}</sup> CCTAGcAAGGAGGAGC                 | Diabetes, MODY  |
| CD064651        | AGGAG <sup>{229}</sup> CGAGAgcCGCTAGTGGA                | Diabetes, MODY  |
| CD083314        | AGGAG <sup>{236}</sup> TGCAAtag_E3I3_gtacaaCGGCGGGCGG   | Diabetes, MODY3 |
| CD083315        | ATGCATC <sup>{243}</sup> CAGagAGGGGTGTCC                | Diabetes, MODY3 |
| CD064649        | AGAGA <sup>{245}</sup> GGGGTgtCCCCATCACA                | Diabetes, MODY  |
| CD064654        | GTTTGCC <sup>{270}</sup> AACcGGCGCAAGA                  | Diabetes, MODY  |
| CD994268        | GCCAAC <sup>{271}</sup> CGGCgcAAGAAGAAG                 | Diabetes, MODY3 |

|          |                                          |                 |
|----------|------------------------------------------|-----------------|
| CD045567 | GCGCAAA^{274}GAAGaagCCTTCCGGCA           | Diabetes, MODY  |
| CD972459 | CGGGCCC^{290}CCCCaAGGGCCAGG              | Diabetes, MODY3 |
| CD982970 | GGCCC^{290}CCCCaGGGCCAGGCC               | Diabetes, MODY3 |
| CD972460 | CCCCC^{291}CCAGgGCCAGGGCCG               | Diabetes, MODY3 |
| CD083318 | CTCCCT^{306}GGCcTGCTCCACC                | Diabetes, MODY3 |
| CD083319 | GCAGC^{338}GGCGGtCCCTTAGTGA              | Diabetes, MODY3 |
| CD023533 | CCCTTA^{342}GTGAcaGTGTCTACAC             | Diabetes, MODY  |
| CD064655 | TCCAC^{350}CAAGTgTCCCCACGG               | Diabetes, MODY  |
| CD067209 | AGTGTCC^{353}CCCacggggcctggagcCCAGCCACAG | Diabetes, MODY3 |
| CD045566 | CTTCCCTCGtag_I5E6_{370}GTCTCAGCAG        | Diabetes, MODY  |
| CD993631 | CAGCA^{373}GCTGGgGGCCCCCTCC              | Diabetes, MODY3 |
| CD083320 | GCCCC^{377}CTCCcCCTGTcAGCA               | Diabetes, MODY3 |
| CD064653 | GGCCCC^{377}CTCCcCCTGTcAGCA              | Diabetes, MODY  |
| CD962165 | CCCCTC^{378}CCCCctGTcAGCACCC             | Diabetes, MODY3 |
| CD982971 | CCCTC^{378}CCCCctGTcAGCACCC              | Diabetes, MODY3 |
| CD972461 | CTTGGAG^{391}CAGaCATCCCCAGG              | Diabetes, MODY3 |
| CD067210 | GCAGACA^{393}TCCcCAGGCCTCAA              | Diabetes, MODY  |
| CD972462 | CCAGCAG^{400}CCCcAGAACCCTCAT             | Diabetes, MODY3 |
| CD052124 | TGGCC^{440}TCCACgCAGGCACAGA              | Diabetes, MODY  |
| CD972463 | TCCACG^{442}CAGGcaCAGAGTGTGC             | Diabetes, MODY3 |
| CD030621 | GCAGGCA^{444}CAGagTGTGCCGGTC             | Diabetes, MODY  |
| CD083313 | ACCTGTG^{481}CAGagCCATGTGACC             | Diabetes, MODY3 |
| CD050907 | ACCCAG^{487}AGCCcCTTCATGGCC              | Diabetes, MODY3 |
| CD083317 | CCAGC^{536}CTCACgcccACCAAGCAG_E8I8_G     | Diabetes, MODY3 |
| CD004512 | TCACG^{538}CCCACcAAGCAG_E8I8_GTAA        | Tip 2 Diyabet   |

|          |                                           |                 |
|----------|-------------------------------------------|-----------------|
| CD053009 | <b>CTTCACC^{545}TCAgacaCTGAGGCCTC</b>     | Diabetes, MODY  |
| CD962166 | <b>CCTCA^{546}GACACtgAGGCCTCCAG</b>       | Diabetes, MODY3 |
| CD112125 | <b>CGCCAGC^{588}CCCacAG_E9I9_GTGAGAGG</b> | Diabetes, MODY3 |
| CD064652 | <b>CAATGGC^{607}CAGagCCACCTGCTG</b>       | Diabetes, MODY  |
| CD083321 | <b>GCTGCCA^{613}TCCaaCCACAGCGTC</b>       | Diabetes, MODY3 |
| CD083316 | <b>CACAGC^{617}GTCAtcGAGACCTTCA</b>       | Diabetes, MODY3 |