

**T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ISI ŞOKU PROTEİN (HSP) AİLESİ ÜYELERİNİN KARPUZ
BİTKİSİNDE TESPİTİ, KARAKTERİZASYONU VE KURAKLIK
İLE SICAKLIK STRESLERİNDE GEN İFADE ANALİZLERİ**

Merve KELEŞ

Danışman	Dr. Öğr. Üyesi Yasemin ÇELİK ALTUNOĞLU
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Orhan KAVUNCU
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Musa KAVAS

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK ANA BİLİM DALI**

KASTAMONU – 2018

TEZ ONAYI

Merve KELEŞ tarafından hazırlanan " **Isı Şoku Protein (Hsp) Ailesi Üyelerinin Karpuz Bitkisinde Tespiti, Karakterizasyonu ve Kuraklık ile Sıcaklık Streslerinde Gen İfade Analizleri** " adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde savunulmuş ve **oy birliği** ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Genetik ve Biyomühendislik Ana Bilim Dalı' nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Yasemin ÇELİK ALTUNOĞLU
Kastamonu Üniversitesi

Jüri Üyesi

Prof. Dr. Orhan KAVUNCU
Kastamonu üniversitesi

Jüri Üyesi

Doç. Dr. Musa KAVAS
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

11/05/2018

Enstitü Müdür V.

Doç. Dr. Mehmet Altan KURNAZ

TAAHHÜTNAME

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildirir ve taahhüt ederim.

İmza

Merve KELEŞ



ÖZET

Yüksek Lisans

ISI ŞOKU PROTEİN (HSP) AİLESİ ÜYELERİNİN KARPUZ BİTKİSİNDE TESPİTİ, KARAKTERİZASYONU VE KURAKLIK İLE SICAKLIK STRESLERİNDE GEN İFADE ANALİZLERİ

Merve KELEŞ

Kastamonu Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Genetik ve Biyomühendislik Ana Bilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Yasemin ÇELİK ALTUNOĞLU

Isı şoku (*Hsp*) genleri, canlılar için hayati öneme sahip genlerdir. Bu gen ailesi altı sınıfa ayrılır ve tüm canlılarda bulunur. Bu çalışmada karpuz bitkisindeki *Hsp* gen aileleri biyoinformatik analizler ile belirlenmiş ve incelenmiştir. Bunun yanı sıra genlerin deneysel olarak da kombine kuraklık ve sıcaklık stresleri altındaki ifade profilleri incelenerek biyoinformatik analizler ile elde edilen sonuçlar karşılaştırılmıştır. Karpuz genomunda sHsp ailesine ait 39 gen, Hsp40 ailesine ait 101 gen, Hsp60 ailesine ait 23 gen, Hsp70 ailesine ait 12 gen, Hsp90 ailesine ait 6 gen ve Hsp100 ailesine ait 102 gen bulunmuştur. Bu proteinlere ait elde edilen filogenetik ağaçlarda aynı sınıfta yer alan proteinlerin motif kalıplarının benzer olduğu görülmüştür. Bu genlere ait proteinlerin tahmini üç boyutlu yapıları incelendiğinde hemen hemen tüm ailelerde α -sarmal yapının hakim olduğu belirlenmiştir. Gen ontoloji analizlerinde moleküler fonksiyonlarının çoğunlukla bağlanma olduğu gözlenmiştir. Kombine stres koşulları altında gen ifade seviyelerine gerçek zamanlı PZR ile bakıldığında ise tüm doku örneklerinde (kök, gövde, yaprak, sürgün) çalışılan genlerde genellikle 30. dakikada belirgin olarak bir artış tespit edilmiştir. Bu çalışma, karpuz Hsp'leri için geniş bir bilgi sunmaktadır ve *Hsp* genleri ile kombine stres arasındaki ilişkiler hakkında bilgi birikimimizi arttırabilir. Sonuç olarak, elde edilen veriler ile çalışmanın daha da ileriki adımlara taşınabileceği ve karpuz yetiştiriciliği için yararlı olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Karpuz, Hsp (Isı şoku proteini), kuraklık stresi, biyoinformatik analiz, gen ifade analizi

2018, 128 sayfa

Bilim Kodu: 923

ABSTRACT

MSc. Thesis

IDENTIFICATION, CHARACTERIZATION OF HSP (HEAT SHOCK PROTEIN) FAMILY MEMBERS IN WATERMELON AND ANALYSIS OF GENE EXPRESSIONS UNDER DROUGHT AND HEAT STRESSES

Merve KELEŞ

Kastamonu University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Genetics and Bioengineering

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Yasemin ÇELİK ALTUNOĞLU

Abstract: Heat shock (*Hsp*) genes have vital importance for organisms. This gene family is divided into six classes and found in all living organisms. In this study, *Hsp* gene families in watermelon were identified and studied by bioinformatics analysis. Besides, expression profiles of genes under combined drought and heat stress conditions were experimentally analyzed and the results were compared by bioinformatics analyzes. In watermelon genome, 39 gene belonging to sHsp family, 101 gene belonging to Hsp40 family, 23 gene belonging to Hsp60 family, 12 gene belonging to Hsp70 family, 6 gene belonging to Hsp90 family and 102 gene belonging to Hsp100 family were found. It is also seen that the proteins in the same clade in the constructed phylogenetic trees had similar motif patterns. When the estimated three-dimensional structures of proteins belonging to these genes are examined, it has been determined that α -helical structure was dominant in almost all families. In gene ontology analysis, it has been observed that molecular functions of those proteins were mostly by binding. A significant increase was detected usually at 30 minutes in almost all samples (root, stem, leaf, shoot) for studied gene families when real time-PCR was used to assess the gene expression levels under combined stress conditions. This study provides an extensive information for watermelon Hsps and can enhance our knowledge about the relationships between *Hsp* genes and combined stresses. Consequently, it is thought that this study can be carried forward to further steps and can be beneficial for watermelon breeding.

Key Words: Watermelon, Hsp (Heat shock protein), drought stress, bioinformatics analysis, gene expression analysis

2018, 128 pages

Science Code: 923

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmalarım süresince, bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren, önerileri ile beni yönlendiren, manevi olarak desteğini hiç esirgemeyen başta Danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Yasemin ÇELİK ALTUNOĞLU' na, deneylerimin tüm aşamalarında bana yardımcı olan Doç. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU' na, tez çalışmalarım sırasında bana her zaman destek ve yardımcı olan N. Mehmet Ünel'e, Şerife Yerlikaya'ya ve laboratuvarındaki diğer tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Eğitimim boyunca her zaman yanımda olup bana her türlü desteği veren canım ailem olan anneme, babama ve kardeşlerime, ayrıca her zaman bilgisi, yardımı ve sevgisiyle yanımda olan eşim Murat Keleş'e en içten duygularıyla sonsuz teşekkür ederim.

Merve KELEŞ
Kastamonu, Mayıs, 2018

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
TABLolar DİZİNİ	xv
FOTOĞRAFLAR DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ	1
1.1. Karpuz Hakkında Genel Bilgiler	2
1.1.1. Karpuzun Tarihçesi	2
1.1.2. Karpuzun Yetiştirilme Koşulları	3
1.1.3. Karpuzun Ekonomik Önemi	4
1.2. Bitkilerde Stres Kavramı	5
1.2.1. Kuraklık Stresi.....	6
1.2.2. Sıcaklık Stresi	6
1.3. Gen İfadesinin Belirlenmesi İçin Kullanılan Metotlar	6
1.3.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu	6
1.3.2. Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu	8
1.4. Isı Şoku Proteinleri (Heat Shock Protein)	10
1.4.1. Küçük Isı Şoku Proteinleri (smallHsp)	12
1.4.2. Isı Şoku Proteini 40 (Hsp40)	13
1.4.3. Isı Şoku Proteini 60 (Hsp60)	14
1.4.4. Isı Şoku Proteini 70 (Hsp70)	15
1.4.5. Isı Şoku Proteini 90 (Hsp90)	16
1.4.6. Isı Şoku Proteini 100 (Hsp100)	17
2. KURAMSAL ÇERÇEVE	18
3. MATERYAL VE YÖNTEM	20
3.1. Materyal	20

3.1.1. Kimyasal Madde ve Kitler	20
3.1.2. Kullanılan Cihaz ve Aletler	20
3.1.3. Bitki Materyali	21
3.2. Yöntem	22
3.2.1. Karpuz Genomunda Isı Soku Genlerinin Belirlenmesi	22
3.2.2. Karpuz Genomunda Isı Şoku Genlerinin Kromozomal Yerleşimlerinin Belirlenmesi ve Gen Yapısının Tahmini	22
3.2.3. Karpuz Bitkisinde Isı Şoku Genlerinin Dizi Hizalanması	23
3.2.4. Filogenetik Analizler	23
3.2.5. Korunmuş Motiflerin ve Ekzon-İntron Yapılarının Belirlenmesi	23
3.2.6. Isı Şoku Gen Ontoloji Analizleri	23
3.2.7. Karpuzdaki Isı Şoku Proteinlerinin Diğer Türler İle Karşılaştırmalı Fiziksel Haritasının Çıkarılması	24
3.2.8. Homolog ve Homolog Olmayan Değişim Oranlarının Hesaplanması	24
3.2.9. Karpuz Bitkisi için Belirlenen Isı Şoku Proteinlerinin Homoloji Modellemesi	25
3.2.10. Karpuz Bitkisinde Isı Şoku Genlerini Hedef Alan miRNA' ların Bilgisayarlı Tanımlanması	25
3.2.11. Transkriptom Verileri Kullanılarak Karpuz Bitkisinde Isı Şoku Genlerinin İfade Profillerinin Belirlenmesi	26
3.2.12. Karpuz Örneklerinin Yetiştirilmesi ve Stres Uygulamaları	26
3.2.13. Moleküler Genetik Metotlar	29
3.2.13.1. Bitki Örneklerinden RNA İzolasyonu Yapılması	29
3.2.13.2. DNaz Muamelesi	30
3.2.13.3. Komplementer DNA Sentezi	31
3.2.13.4. Primer Tasarımı	32
3.2.13.5. Agaroz Jel Elektrophorezi	32
3.2.13.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Analizleri	33
3.2.13.7. Gerçek Zamanlı PZR Analizleri	34
3.2.14. İstatistiksel Analizler.....	35
4. BULGULAR	36
4.1. <i>ClaHsp</i> Genlerinin Biyoinformatik Analizleri	36

4.1.1. Karpuz Bitkisinde Isı Şoku Genlerinin Dizilerinin Belirlenmesi, Adlandırılması ve Karakterizasyonu	36
4.1.2. Karpuz Bitkisindeki <i>Hsp</i> Genlerinin Kromozomal Dağılımı	37
4.2. Karpuz Isı şoku Genlerinin Filogenetik Analizleri	40
4.2.1. Karpuz Isı Şoku Genlerinin Filogenetik Ağaç Analizi	40
4.2.2. Karpuz Isı Şoku Genlerinin Motiflerinin ve Ekzon-İntron Yapılarının Tanımlanması.....	43
4.2.3. Karpuz Isı Şoku Genlerinin Ontoloji Analizleri	45
4.3. Karpuzda Isı Şoku Genlerini Hedefleyen miRNA'ların Analizleri	48
4.4. Isı Şoku Proteinlerinin Homoloji Modellemesi	49
4.5. Karpuz Isı Şoku Genlerinin Farklı Organizmalar ile Ortologlarının ve Ayrılma Zamanlarının Belirlenmesi.....	56
4.6. Karpuz Isı Şoku Genleri için Transkriptom Analizi	58
4.7. Karpuz Isı Şoku Genlerinin Sıcaklık ve Kuraklık Stresi Altında Gen İfade Analizleri	62
5. TARTIŞMA	67
KAYNAKLAR	76
EKLER.....	83
EK-1 (Hoagland çözeltilisinin kimyasal içeriği).....	84
EK-2 (10X TAE Tamponunun içeriği)	84
EK-3 (Karpuzda (<i>Citrullus lanatus</i>) tanımlanan <i>sHsp</i> genleri)	85
EK-4 (Karpuzda (<i>Citrullus lanatus</i>) tanımlanan <i>Hsp40</i> genleri).....	86
EK-5 (Karpuzda (<i>Citrullus lanatus</i>) tanımlanan <i>Hsp60</i> genleri).....	88
EK-6 (Karpuzda (<i>Citrullus lanatus</i>) tanımlanan <i>Hsp70</i> genleri).....	89
EK-7 (Karpuzda (<i>Citrullus lanatus</i>) tanımlanan <i>Hsp90</i> genleri).....	90
EK-8 (Karpuzda (<i>Citrullus lanatus</i>) tanımlanan <i>Hsp100</i> genleri).....	90
EK-9 (<i>ClasHsp</i> genlerinin motif kompozisyonları)	93
EK-10 (<i>ClaHsp40</i> genlerinin motif kompozisyonları)	94
EK-11 (<i>ClasHsp60</i> genlerinin motif kompozisyonları).....	95
EK-12 (<i>ClasHsp70</i> genlerinin motif kompozisyonları).....	95
EK-13 (<i>ClaHsp90</i> genlerinin motif kompozisyonları)	96
EK-14 (<i>ClaHsp100</i> genlerinin motif kompozisyonları)	97

EK-15 (<i>ClasHsp</i> genlerinin ekzon-intron yapısı)	98
EK-16 (<i>ClaHsp40</i> genlerinin ekzon-intron yapısı)	99
EK-17 (<i>ClaHsp60</i> genlerinin ekzon-intron yapısı)	100
EK-18 (<i>ClaHsp70</i> genlerinin ekzon-intron yapısı)	100
EK-19 (<i>ClaHsp90</i> genlerinin ekzon-intron yapısı)	100
EK-20 (<i>ClaHsp100</i> genlerinin ekzon-intron yapısı)	101
EK-21 (<i>ClasHsp</i> Genlerinin Arabidopsis, Soya, Çeltik, Kavak, Asma Ve Mısır İle Ortolog İlişkisi)	102
EK-22 (<i>ClaHsp70</i> Genlerinin Arabidopsis, Soya, Çeltik, Kavak, Asma Ve Mısır İle Ortolog İlişkisi)	106
EK-23 (<i>ClaHsp90</i> Genlerinin Arabidopsis, Soya, Çeltik, Kavak, Asma Ve Mısır İle Ortolog İlişkisi)	120
ÖZGEÇMİŞ	127

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

aa	Amino asit
Asn	Asparajin
ATP	Adenozin trifosfat
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool (Temel Yerel Hizalama Arama Aracı)
Bp (bç)	Base Pair (Baz çifti)
cDNA	Komplementer DNA
cm	Santimetre
ClaHSP	<i>Citrullus lanatus</i> ’a ait Hsp genleri
CO ₂	Karbondioksit
Ct	Cycle Threshold (Döngü Eşiği)
Da	Dalton- Atomik kütle birimi
DEPC	Dietil pyrokarnonat
dk	Dakika
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	Deoksiribonükleotid trifosfat
EDTA	Etilendiamin Tetraasetik Asit
E-value	Beklenti değeri
FAO	Food and Agriculture Organization
His	Histidin
Hsp	Heat shock protein (Isı şoku proteini)
Ka	Homolog Olmayan Değişim Oranı
kDa	Kilodalton
Ks	Homolog Değişim Oranı
Ks/Ka	Homolog Değişimlerin Homolog Olmayan Değişimlere Oranı
L	Litre
m	Metre
M	Molar
Mbp	Mega Base Pair (Bir Milyon Baz Çifti)
MEME	Multiple EM for Motif Elicitation
mg	Miligram
MgCl ₂	Magnezyum Klorür
miRNA	Mikro RNA
ml	Mililitre
mRNA	Mesajcı Ribo Nükleik Asit
M.Ö	Milattan Önce
Mya	Milyonlarca Yıl Önce
ng	Nanogram
PDB	Protein Data Bank
PEG	Polietilen Glikol 6000
Pro	Prolin
PZR	Polimer Zincir Reaksiyonu
pI	İzoelektronik Etki Değeri
Pi	Fosfat

RNA	Ribo Nükleik Asit
RNAze	RiboNükleaz
rpm	Revolution Per Minute (Dakikadaki Devir Sayısı)
RT-PZR	Real Time PZR (Gerçek Zamanlı PZR)
SBD	Peptid bağlayıcı domain
sn	Saniye
SRA	Sequence Read Archive
TAE	Tris-Asetat Tamponu
TM	Erime Sıcaklığı- Hidrojen Bağlarının Oluştuğu Sıcaklık
Tris	Tris (hidroksimetil)aminomethane
TUİK	Türkiye İstatistik Kurumu
�C	Santigrad
~	Yaklaşık olarak
�	Alfa
�	Mikro
�mol	Mikromol
�M	Mikromolar
�l	Mikrolitre
�	Beta

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1. Taqman tekniğinin aşamaları.....	9
Şekil 1.2. Syber Green tekniğinin aşamaları.....	10
Şekil 1.3. sHsp'lerin denatüre proteinler ile oligomer kompleksi.....	13
Şekil 1.4. Hsp70'in Şaperon Döngüsü.....	16
Şekil 4.1. <i>ClasHsp</i> genlerinin karpuz kromozomu üzerindeki yerleşimi.....	37
Şekil 4.2. <i>ClaHsp40</i> genlerinin karpuz kromozomu üzerindeki yerleşimi.....	38
Şekil 4.3. <i>ClaHsp60</i> genlerinin karpuz kromozomu üzerindeki yerleşimi.....	38
Şekil 4.4. <i>ClaHsp70</i> genlerinin karpuz kromozomu üzerindeki yerleşimi.....	39
Şekil 4.5. <i>ClaHsp90</i> genlerinin karpuz kromozomu üzerindeki yerleşimi.....	39
Şekil 4.6. <i>ClaHsp100</i> genlerinin karpuz kromozomu üzerindeki yerleşimi.....	40
Şekil 4.7. <i>ClasHsp</i> proteinlerine ait filogenetik ağaç	40
Şekil 4.8. <i>ClaHsp40</i> proteinlerine ait filogenetik ağaç.....	41
Şekil 4.9. <i>ClaHsp60</i> proteinlerine ait filogenetik ağaç.....	41
Şekil 4.10. <i>ClaHsp70</i> proteinlerine ait filogenetik ağaç.....	42
Şekil 4.11. <i>ClaHsp90</i> proteinlerine ait filogenetik ağaç.....	42
Şekil 4.12. <i>ClaHsp100</i> proteinlerine ait filogenetik ağaç.....	43
Şekil 4.13. <i>ClasHsp</i> genlerine ait fonksiyonel analizler.....	45
Şekil 4.14. <i>ClaHsp40</i> genlerine ait fonksiyonel analizler.....	46
Şekil 4.15. <i>ClaHsp60</i> genlerine ait fonksiyonel analizler.....	46
Şekil 4.16. <i>ClaHsp70</i> genlerine ait fonksiyonel analizler.....	47
Şekil 4.16. <i>ClaHsp70</i> genlerine ait fonksiyonel analizler.....	47
Şekil 4.18. <i>ClaHsp100</i> genlerine ait fonksiyonel analizler.....	48
Şekil 4.19. <i>ClaHsp</i> genlerini hedef alan miRNA'lar.....	49
Şekil 4.20. <i>ClasHsp</i> genlerine ait proteinlerin tahmini üç boyutlu yapısı.....	50
Şekil 4.21. <i>ClaHsp40</i> genlerine ait proteinlerin tahmini üç boyutlu yapısı.....	51
Şekil 4.22. <i>ClaHsp60</i> genlerine ait proteinlerin tahmini üç boyutlu yapısı.....	52
Şekil 4.23. <i>ClaHsp70</i> genlerine ait proteinlerin tahmini üç boyutlu yapısı.....	53
Şekil 4.24. <i>ClaHsp90</i> genlerine ait proteinlerin tahmini üç boyutlu yapısı.....	54
Şekil 4.25. <i>ClaHsp100</i> genlerine ait proteinlerin tahmini üç boyutlu yapısı.....	55
Şekil 4.26. <i>ClasHsp</i> genlerinin diğer organizmalar ile ortolog ilişkisi.....	56
Şekil 4.27. <i>ClaHsp70</i> genlerinin diğer organizmalar ile ortolog ilişkisi.....	57
Şekil 4.28. <i>ClaHsp90</i> genlerinin diğer organizmalar ile ortolog ilişkisi.....	58
Şekil 4.29. <i>ClasHsp</i> genlerine ait ısı haritaları.....	59
Şekil 4.30. <i>ClaHsp40</i> genlerine ait ısı haritaları.....	59
Şekil 4.31. <i>ClaHsp60</i> genlerine ait ısı haritaları	60
Şekil 4.32. <i>ClaHsp70</i> genlerine ait ısı haritaları	60
Şekil 4.33. <i>ClaHsp90</i> genlerine ait ısı haritaları	60
Şekil 4.34. <i>ClaHsp100</i> genlerine ait ısı haritaları	61
Şekil 4.35. Karpuz gövde örneklerinin gerçek zamanlı PZR sonuçları.....	62
Şekil 4.36. Karpuz yaprak örneklerinin gerçek zamanlı PZR sonuçları.....	63
Şekil 4.37. Karpuz sürgün örneklerinin gerçek zamanlı PZR sonuçları.....	64
Şekil 4.38. Karpuz kök örneklerinin gerçek zamanlı PZR sonuçları.....	65

TABLÖLER DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 1.1. Türkiye'nin yıllar bazında karpuz üretim miktarı.....	4
Tablo 3.1. Transkriptom analizi için kullanılacak örnekler ve erişim numaraları.....	26
Tablo 3.2. DNase reaksiyonu için uygulanan protokol.....	30
Tablo 3.3. cDNA sentezi için gerekli reaksiyon protokolü.....	31
Tablo 3.4. Tasarlanan primerler ve özellikleri.....	32
Tablo 3.5. PZR için gerekli bileşenler.....	33
Tablo 3.6. Polimeraz zincir reaksiyonunun çalışması için gerekli şartlar.....	34
Tablo 3.7. Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu için gerekli bileşenler.....	34
Tablo 3.8. Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonunun çalışma koşulları	35

FOTOĞRAFLAR DİZİNİ

	Sayfa
Fotoğraf 3.1. Ekilen karpuz tohumlarının ilk hafta sonundaki görünümü....	27
Fotoğraf 3.2. Ekilen karpuz tohumlarının 4. hafta sonundaki görünümü....	28



1. GİRİŞ

Küresel ısınmanın, yüksek sıcaklıkların bitki gelişimi üzerindeki zararlı etkisi nedeniyle, bitki büyümesi üzerinde genel bir olumsuz etkiye sahip olacağı tahmin edilmektedir (Bita ve Gerats, 2013). Küresel olarak, başlıca abiyotik stres faktörleri - kuraklık, yüksek ve düşük sıcaklıklar ve tuzluluk - ürün verimindeki büyük düşümlere yol açmaktadır (Kosova vd., 2018). Abiyotik stresler genellikle tek tek veya kombinasyon halinde birbirleriyle ilişkilidir, bitki büyümesini ve üretkenliğini olumsuz yönde etkileyen morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler değişikliklere neden olur ve sonuçta verimi düşürürler (Bita ve Gerats, 2013).

Dünya nüfusundaki artış ile birlikte su sıkıntısı da artmıştır. Dünyada su kaynaklarının azalması nedeniyle kuraklık stresi bitki yetiştiriciliğinde her geçen gün önemli hale gelmekte ve ekonomik öneme sahip bitkilerin normal fizyolojik işlevlerinde önemli değişikliklere yol açmaktadır (Örs ve Ekinci, 2015). Dolayısıyla su stresi, dünya genelinde mahsul üretimini sınırlandırmaktadır (Kaya vd., 2003).

Artan iklim değişikliği tehdidi, dünya çapında tarımsal üretim üzerinde önemli bir etkiye sahiptir, zira ısı dalgaları gelecekteki küresel gıda güvenliği için büyük riskler ile önemli ölçüde verim kayıplarına neden olmaktadır (Bita ve Gerats, 2013).

Bitkiler bütün bu olumsuz etkileri azaltmak ya da tamamen engellemek için bazı moleküler mekanizmalara sahiptirler. Bu mekanizmalar, iyonların ve makro moleküllerin homeostazisi, reaktif oksijen türleri (ROS), koruyucu moleküllerin sentezi gibi mekanizmalardır (Büyük vd., 2012). Isı ve kuraklık stresi, yüksek bitkilerde bir dizi büyüme ve metabolik tepkilere neden olur (Wang vd., 2014). Proteinlerin bitki stres cevabındaki rolü önemlidir. Çünkü proteinler, değişmiş çevreye fizyolojik özelliklerin uyarlanması ile yeni fenotipin şekillendirilmesinde doğrudan rol oynarlar (Kosova vd., 2018). Bundan dolayı bitkiler de değişen çevre koşullarına adaptasyonu sağlamak için bazı proteinler üretir. Bu streslere karşı üretilen proteinlerden biri de ısı şoku proteinleridir. Isı şoku proteinleri (Hsp), diğer adıyla şaperonlar, birçok normal hücresel süreçte protein katlanması, birleştirilmesi, translokasyonu ve parçalanmasından sorumludur, proteinleri ve membranları

stabilize eder ve stres koşullarında proteinin yeniden katlanmasında yardımcı olur (Wang vd., 2004).

Karpuz, dünyada yaygın olarak yetiştirilen ürünlerden biridir (Huh vd., 2014). Karpuz, Cucurbitaceae familyasının ekonomik olarak önemli bir üyesi olup, iki alt aile, sekiz oymak, yaklaşık 118 cins ve 825 türden oluşur. Karpuzun diploid kromozom sayısı $2n = 2x = 22$ 'dir (Solmaz vd., 2010).

1.1. Karpuz Hakkında Genel Bilgiler

Karpuz (*Citrullus lanatus*), dünyada yetişen önemli bir bitki türüdür. Cucurbitaceae (kabakgiller) familyasına ait karpuz, tek yıllık bir bitki türüdür. Karpuzun genomu 2013 yılında yayınlanmıştır. Buna göre 11 kromozoma sahip karpuz genomunda 23.440 protein kodlayan genin olduğu tahmin edilmektedir. Ayrıca 123 ribozomal RNA (rRNA), 789 transfer RNA, 335 küçük nükleer RNA ve 141 mikroRNA geni de tanımlanmıştır. Karpuz (*C. lanatus*) önemli bir bitki olup, bitkisel üretimine ayrılan dünya çapındaki alanın % 7'sini oluşturmaktadır. Karpuz çeşitlerinin meyveleri şekil, boyut, renk, doku, lezzet ve besin kompozisyonu açısından çeşitlidir. Çoğunlukla sudan (% 90'ın üzerinde) oluşmasına rağmen, karpuz ayrıca şeker, likopen, sitrulin, arginin ve glutatyon gibi kardiyovasküler sağlık artırıcı önemli besleyici bileşikleri de içerir (Guo, vd., 2013). Ayrıca karpuz açık tozlanma ve hibrit çeşitlerle yetiştiriciliği yapılan bir meyvedir (Polat vd., 2017). Türkiye, Çin'den sonra yaklaşık 4 milyon ton ile ikinci büyük karpuz üreticisidir (Huh vd., 2014).

1.1.1. Karpuzun Tarihçesi

Citrullus'un olası kökeninin ve çeşitliliğinin merkezi Güney Afrika'dır (Guo vd., 2013; Karipçin, 2009). Afrika ve Orta Doğu'da uzun bir tarım geçmişine sahip olan karpuz, Mısır'da en az 4000 yıl boyunca en önemli bitkilerden biri olmuştur (Huh vd., 2014; Karipçin, 2009).

1.1.2. Karpuzun Yetiştirilme Koşulları

Sıcak ve ılık iklim bitkisi olan karpuz, sulu ortamlarda ve Türkiye'nin neredeyse her ilinde yetişebilir. Bulundukları bölgelere göre farklı genotiplerde yetiştirilen karpuzun, hava sıcaklığı ve buharlaşma oranı yüksek olan kuru bölgelerde yaygın olarak yerel genotipleri kullanılır (Polat vd., 2017; Tuna ve Özer, 2005).

Yetiştirilme koşulları açısından dikkat edilmesi gereken bazı önemli hususlar vardır. Bu hususların başında, bitkinin yetiştirme evresinde karşılaşmaması gereken don tehlikesidir. Aynı zamanda tohum ekimi esnasında toprak sıcaklığı yaklaşık olarak 12 °C veya üzerinde olmalıdır. Rutubetli ortamlarda hastalanma riski yüksek olan karpuz bitkisini yetiştirmek için su tutma kapasitesi yüksek olan toprakların kullanılması daha uygun olacaktır (Tuna ve Özer, 2005).

Yetiştirilmek için kullanılan toprakların içermesi gereken minerallerin başında kalsiyum (Ca^{+2}) elementinin organik ve inorganik formları gelir. Bu mineralin varlığı, bitki büyümesi ve gelişmesinde, bitki hücrelerinin membran geçirgenliğinin ayarlanmasında, dokuların dengede tutulmasında ve ayrıca bitki hücrelerinin yapısal ve fonksiyonel özellikleri için oldukça önemli rollere sahiptir. Topraktaki kalsiyum mineralinin eksikliği ise karpuz bitkilerinin veriminin düşmesi ve fizyolojik bozuklukların ortaya çıkmasının yanı sıra karpuz kalitesini de oldukça etkilemektedir. Bitkinin ihtiyaç duyduğu kalsiyumu dikkate alarak ve bitki çeşidine bağlı olarak temel gübrelemede kalsiyumlu gübreler tercih edilmelidir. Kalsiyumun bitki bünyesine aktarılması ise toprak veya yaprak yoluyla yapılır ve yapılan çalışmalarda bitki içerisinde bulunan kalsiyumun daha çabuk etki etmesi için kalsiyumun yaprak yoluyla verilmesi daha uygundur. Kalsiyum dışında bitkinin ihtiyaç duyduğu diğer mineraller K^{+} (potasyum), Mg^{+2} (magnezyum), N^{-2} (azot), ve P^{-3} (fosfor) olarak sıralanabilir. Toprağı sulamanın yanı sıra bu mineralleri bitkiye sağlamanın da dengeli bir biçimde olması gerekmektedir. (Tuna ve Özer, 2005; Locascio vd., 1992).

1.1.3. Karpuzun Ekonomik Önemi

Yıllık dünya karpuz üretimi yaklaşık 90 milyon ton olup en çok tüketilen beş taze meyve arasında yer almaktadır (FAO, <http://faostat.fao.org/>). Çin'den sonra karpuz üretiminde dünyadaki en önemli ülkelerin başında Türkiye ve İran gelmektedir (Huh vd., 2014). Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre 2016 yılında Türkiye'de toplam karpuz üretimi 3 928 892 tondur ve bu oran 2017 yılında yaklaşık olarak %1,02 oranında artış göstererek 4 011 313 ton seviyesine ulaşmıştır. Böylece dünyada üretilen toplam karpuz miktarının yaklaşık 4 milyon tonla % 4,4 lük kısmı Türkiye'de üretilmektedir. Ayrıca karpuz üretimi konusunda 2017 yılında il bazında en çok üretim olan ilimiz 831 684 tonla Adana ili ve çevresidir. Adana ilinden sonra karpuz üretiminde önemli payı olan illerimiz sırasıyla Antalya, İzmir, Diyarbakır, Bursa, Mersin, Samsun ve Şanlıurfa'dır (TÜİK, 2018). Adana ilinin öne çıkmasını, Çukurova Bölgesinin uygun ekolojik ve ekonomik koşullara sahip olması ve sebze üretimi için verimli toprakları kapsaması ile açıklanabilir (Keçe, 2012).

Tablo 1.1. Türkiye'nin yıllar bazında karpuz üretim miktarı (TÜİK,2018)

YIL	KARPUZ ÜRETİM MİKTARI (Ton)
2007	3 796 680
2008	4 002 285
2009	3 810 205
2010	3 683 103
2011	3 864 489
2012	4 022 296
2013	3 887 324
2014	3 885 617
2015	3 918 558
2016	3 928 892
2017	4 011 313

1.2. Bitkilerde Stres Kavramı

Hem doğal, hem de tarımsal koşullar altında, bitkiler sıklıkla çevresel streslere maruz kalır. Hava sıcaklığı gibi bazı çevresel etmenler yalnızca birkaç dakikalığına stres oluştururken; topraktaki su içeriği gibi diğer stresler günlerce sürebilir. Topraktaki mineral eksikliği ise aylarca stres oluşturabilir (Büyük vd., 2012)

Bunun dışında stres, toprak ve iklimin bitki türlerinin dağılışını nasıl sınırlandırdığının anlaşılmasını sağlar. Bu nedenle, bitkilerin çevresel streslere adaptasyonu ve alışma mekanizmalarının altında yatan fizyolojik işlemlerin anlaşılması hem tarım hem de çevre açısından büyük önem taşır (Büyük vd., 2012).

Bitkiler hareketsiz doğaları gereğince yaşam döngüleri boyunca büyüme ve gelişmelerini etkileyen birçok olumsuz stres faktörü ile karşılaşır (Büyük vd., 2012). Bitkiler taşınarak bu olumsuz çevresel streslerden kaçamazlar (Zhu, 2016) Bu olumsuz çevre koşulları, patojen enfeksiyonu ve otçul saldırıları gibi biyotik stres ya da kuraklık, ısı, soğuk, besin eksikliği ve topraktaki alüminyum, arsenat ve kadmiyum gibi tuz veya toksik metaller gibi abiyotik stresler olabilir (Zhu, 2016). Bu streslerin tümü bitkilerde biyosentez kapasitesinin azalmasına, normal fonksiyonlarının değişmesine ve sonuç olarak ölümüne neden olan zararlara yol açabilir (Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005).

Kuraklık, tuz ve sıcaklık stresleri, bitkilerin doğadaki coğrafi dağılımını etkileyen, tarımda bitki verimliliğini sınırlandıran ve gıda güvenliğini tehdit eden önemli çevresel faktörlerdir (Zhu, 2016).

Kuraklık, tuzluluk, aşırı sıcaklıklar, kimyasal toksisite ve oksidatif stres gibi abiyotik stresler, tarım için ciddi tehditler oluşturur ve doğal çevrenin bozulmasına neden olur. Abiyotik stres, dünya çapında mahsul kaybının başlıca nedenidir ve çoğu temel kültür bitkisi için ortalama verimi % 50'den fazla azaltmaktadır (Wang vd., 2004).

1.2.1. Kuraklık Stresi

Kuraklık, köklerin su alımında azalmaya neden olan azaltılmış toprak su potansiyeli anlamına gelir. Yapraklarda kuraklık, azalmış CO₂ alımı ile ilişkili stoma kapanmasına yol açar, bu da fotosentetik elektron taşıma işlemleri ve karbon asimilasyonu arasındaki dengesizliklere neden olur (Kosova vd., 2018).

Kuraklık, toprak verimi ile birlikte ürün verimini düşüren en önemli abiyotik stres faktörlerinden biridir. Küresel sıcaklıktaki artışa bağlı olarak, kuraklık stresi veya su

kıtlığının, bitkiler ve bitkisel üretim üzerinde giderek artan bir etkiye sahip olduğu tahmin edilmektedir (Baloglu vd., 2014).

1.2.2. Sıcaklık Stresi

Isı stresi - yüksek sıcaklık - bitkilerin metabolizmasını ve yapısını, özellikle hücre zarlarını ve fotosentez, solunum ve su ilişkileri gibi birçok temel fizyolojik süreci etkiler (Al-Whaibi, 2011). Isı stresi, çimlenme, büyüme, gelişme, üreme ve verim gibi bitki süreçlerinin tüm yönlerini etkiler. Ayrıca, biyokütle üretiminde ve ürün veriminde eş zamanlı azalmalarla birlikte çeşitli metabolik süreçlerde işlev gören kilit bileşenlere zarar vererek bitki fotosentez aktivitesinin inhibe edilmesine yol açar (Wang vd., 2018).

Isı stresi, protein denatürasyonunu önlemek ve protein homeostazını korumak için moleküler şaperonlar olarak işlev gören ısı şoku proteinlerinin (Hsp'ler) ekspresyonunu uyarır (Zhu, 2016).

1.3. Gen İfadesinin Belirlenmesi İçin Kullanılan Metotlar

1.3.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) 1980'lerde Kary Mullis tarafından geliştirilen bir yöntemdir. Bu yöntemin belirli bir DNA dizisini karmaşık DNA kalıpları arasından seçip çoğaltma özelliği, çeşitli tıbbi uygulamaların yanı sıra moleküler biyoloji araştırmaları üzerinde devrim niteliğinde bir etkiye sahip olmuştur. PZR, DNA polimerazın sunulan kalıp DNA zincirine tamamlayıcı yeni DNA dizisini sentezlemesine dayanır. DNA polimeraz sadece önceden var olan 3'-OH grubuna bir nükleotid ekleyebildiğinden, ilk nükleotidi ekleyebildiği bir primere ihtiyaç duyar. Bu gereksinim, araştırmacıların büyütme istediği belirli bir DNA dizisi bölgesini tanımlamayı mümkün kılar. PZR reaksiyonunun sonunda, belirli dizi milyonlarca kopya halinde basit, hızlı ve otomatik bir reaksiyon sonucunda çoğaltılmış olacaktır (Erlich, 1989; Garibyan ve Avashia, 2013; URL-1).

PZR için gerekli bileşenlerden biri hedef diziyi içeren örnek DNA'dır. Reaksiyonun başlangıcında, orijinal iki iplikçikli DNA molekülüne yüksek sıcaklık uygulanır, bunlar iplikçikleri birbirinden ayırırlar. Diğer bir bileşen, DNA'nın yeni dizisini hedef dizinin tamamlayıcısı olarak sentezleyen bir enzim türü olan termostabil DNA polimeraz enzimidir. Bu enzimlerin ilk ve en yaygın olarak kullanılanı, ısıya dayanıklı olması sebebiyle TaqDNA polimerazıdır (*Thermus aquaticus*). Ayrıca, hedef diziyi tamamlayıcı olan tek iplikli kısa DNA parçaları olan primerlere, yeni DNA dizileri için temel yapı taşları olan dNTP'lere (ATP, GTP, TTP, CTP) ve kofaktör olarak kullanılan Mg²⁺ iyonuna ihtiyaç duyulmaktadır (Garibyan ve Avashia, 2013; URL-1).

PZR için kullanılacak kimyasal malzemelerin miktarları ve konsantrasyonları istenilen DNA dizisine göre farklılık gösterebilir. PZR döngüsü, istenilen DNA dizisini çoğaltmak için yaklaşık olarak 30 döngüden oluşur ve her bir döngü üç aşamaya dayanmaktadır:

I. aşama (Denatürasyon): Kalıp DNA'nın yüksek sıcaklık sonucu tek iplik haline dönüşmesi

II. aşama (Bağlanma): Yeni DNA ipliği sentezi için her orijinal diziyi primerin bağlanması

III. aşama (Sentez, Uzama): Yeni DNA ipliklerinin primerlerden uzaması. Bu uzama DNA polimeraz tarafından gerçekleştirilir ve istenilen DNA dizisinin senteziyle sonuçlanır (Delidow et al., 1993).

1.3.2. Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu

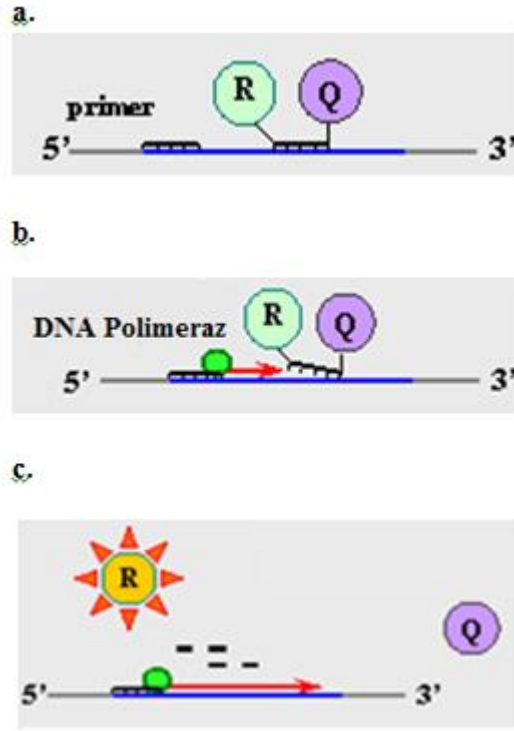
Son yıllarda, gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PZR), biyoteknolojik araştırmalar için güçlü ve yaygın olarak kullanılan bir yöntem olarak ortaya çıkmıştır. Çünkü, PZR sürecinin her döngüsü sırasında spesifik nükleik asit dizilerinin güvenilir şekilde tespit edilmesini ve ölçülmesini sağlayan bir tekniktir (URL-2; Valasek ve Repa, 2005). Ayrıca PZR ile amplifikasyon öncesi örnekteki başlangıç DNA miktarının daha iyi belirlenmesine olanak sağlayan bir tekniktir

(Valasek ve Repa, 2005). Bu teknik, hedef diziye bağlanacak şekilde tasarlanmış bir oligonükleotid probun yerleştirilmesinden sonra mümkün olmuştur. Taq polimerazın 5' nükleaz aktivitesi nedeniyle PZR sırasında probun bölünmesi, algılanabilir bir sinyal üretilmesine neden olur böylece hedef spesifik ürünün amplifikasyonu tespit edilir (URL-2).

Bu teknolojinin uygulanması, fizyolojik, patofizyolojik veya gelişim sürecindeki değişiklikler sonucu gen ifadesindeki değişimlerin hızlı ve doğru bir şekilde değerlendirilmesine imkan sağlar. Bu yöntem, deneysel uyarılara verilen yanıtları ölçmek ve protein seviyesi ve fonksiyonundaki potansiyel değişikliklere ışık tutmak için model sistemlere uygulanabilir. RT-PZR, tek bir nükleotid polimorfizminin (SNP) ve allelik ayrımının ve aynı zamanda mutasyonu taşıyan örneğin sadece küçük bir kısmının genetik varyasyonlarının kantitatif genotiplemesine ve saptanmasına izin verir. Böylece fizyolojik ve biyolojik süreçlerin daha iyi anlaşılması için moleküler olaylarla ilişkilendirilebilir (Valasek ve Repa, 2005; Deepak vd., 2007).

Gerçek zamanlı PZR'yi gözlemlemek için kullanılan floresan saptama yöntemleri, 'Taqman problemleri', 'moleküler işaretleyiciler' ve 'dsDNA bağlayıcı boya SYBR Green I' gibi raportör ve söndürücü boyalarla etiketlenmiş florojenik problemleri içeren teknikler olarak sıralayabiliriz (Yin vd., 2001).

TaqMan deneyi, gerçek zamanlı PZR reaksiyonunun gözlemlenmesi için bulunan ilk yöntemlerden biridir ve hem mRNA'ların miktarının belirlenmesinde hem de genetik varyasyonun saptanmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Yöntem, PZR sırasında bir oligonükleotid probun ayrılması için TaqDNA polimerazın 5' endonükleaz etkinliğinden yararlanır, böylece saptanabilir bir sinyal üretilir. Problemler 5' ucunda floresanlı olarak etiketlenmiştir ve 3' ucunda kimyasal modifikasyonla uzatılamaz (URL-2).



Şekil 1.1. Taqman tekniğinin aşamaları (URL-2)

Taqman tekniğinin aşamaları; **a.** Bağlanma: R raportör florofor sinyali ve Q ise bu sinyali absorblayan emici (quencher) florofor, **b.** Problara doğru uzama: DNA polimeraz, problara doğru ilerleyen primerleri uzatmaya başlar, **c.** Prob bölünmesi: Prob parçalanır ve raportör florofor emici (quencher) florofordan ayrılır ve floresan yaymaya başlar.

SYBR Green I (SG), moleküler biyolojide bir nükleik asit boyası olarak kullanılır. PZR sırasında oluşan çift zincirli DNA'ya bağlanarak ışıma yapar ve böylece polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ürünleri saptanır. Elde edilen DNA-boya kompleksi, 497 nm dalga boyunda mavi ışığı emer ve 520 nm dalga boyunda yeşil ışık yayar. SYBR Green I boyasının PZR'de kullanılması, etidyum bromür ile karşılaştırıldığında algılama hassasiyetinin artmasını sağlar. Bu teknik, genel anlamda herhangi bir çift iplikçikli DNA dizisinin amplifikasyonunu izlemek için kullanılabilir ve reaksiyon kurulumu ve çalışma maliyetlerini arttıran problara ihtiyaç duymaz.

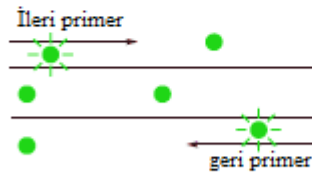
A. Reaksiyon kurulumu



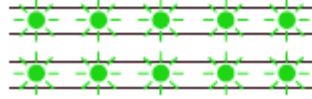
B. Yıkılma



C. Polimerizasyon



D. Polimerizasyonun tamamlanması



Şekil 1.2. Syber Green tekniğinin aşamaları (URL-3)

Syber Green tekniğinin aşamaları; **A. Reaksiyon kurulumu:** Syber Green floresan boyası çift sarmallı DNA'ya bağlanır, **B. Yıkılma:** DNA zinciri açıldığında Syber Green boyası serbest kalır ve floresan ışması önemli ölçüde azalır, **C. Polimerizasyon:** Uzama esnasında primerler bağlanır ve PZR ürünü çoğaltılır. **D. Polimerizasyon tamamlanması:** Polimerizasyon tamamlandığında Syber Green boyası çift zincirli DNA ürününe bağlanır ve floresan ışmasında ciddi bir artış olur. Bu artış ise kullanılan sistemler tarafından gözlemlenir.

1.4. Isı Şoku Proteinleri (Heat Shock Protein)

Proteinler metabolik fonksiyonlar için organizmaların temel yapılarıdır. Bu fonksiyonlarını yerine getirmek için proteinler üç boyutlu yapılarına uygun olarak katlanmalı ve kendi doğal yapılarını korumalıdır. Bu nedenle, hücrelerin hayatta kalması için proteinlerin kalite kontrolü gereklidir (Tutar ve Tutar, 2010).

Isı şoku proteinleri, yaşayan tüm canlı organizmaların hücrelerinde bulunan, yüksek sıcaklık da dahil olmak üzere çeşitli stres koşullarına yanıt olarak sentezlenen ve hücrenin büyümesi ve yaşayabilmesi için gerekli olan özel bir protein grubudur (Whitley vd., 1999; Kumar et al., 2012; Çelik Altunoğlu, 2016).

Isı şoku proteinleri, doğal olmayan protein durumlarının uygun şekilde katlanmasını sağlamak için hem yapısal olarak hem de stres zamanlarında hücre sağ kalımı için kritik öneme sahiptir (Kumar vd., 2012). Ayrıca ısı şoku proteinleri kalite kontrolünün temel belirleyicileridir ve genel hücresel protein dengesinin korunmasında da önemli role sahiptirler (D'Silva, 2012).

Isı şoku proteinleri; protein katlanması, hücresel düzenlenmesi ve uygun olmayan proteinlerin hücrede birikiminin önlenmesi gibi birçok konuda işlevsel olmalarının yanı sıra farklı stres koşullarında da sentezlendiği bilinen moleküler şaperon gibi davranan, yani proteinlerin katlanarak üç boyutlu hale gelmesi işleminde yer alan proteinlerdir (Henle vd., 1998). Açılmamış polipeptidlerin açığa çıkan hidrofobik yüzeyleri ile dinamik olarak birleşirler, agregasyonlarını önlerler ve böylece katlanma sürecini kuvvetlendirirler (URL-4). Hasar görmüş ve yanlış katlanmış polipeptitleri bağlama potansiyeline sahip olan ısı şoku proteinleri bu sayede bu polipeptitlerin yıkımını önleyerek potansiyel olarak hücreyi strese karşı korumada rol oynarlar (Chiba vd., 2006).

Isı şoku proteinleri ilk olarak, 1962'de İtalyan bilimci Ferruccio Ritossa'nın yüksek ısıya maruz kalan meyve sineği'nin (*Drosophila melanogaster*) tükürük bezi kromozomlarındaki şişkinliğin gen ifadesi üzerindeki gözlemi ile keşfedilmiştir. Bunun üzerine bu proteinler ısı şoku proteini (heat-shock protein, Hsp) olarak adlandırılmıştır (Al-Whaibi, 2011). Ancak ısı şoku proteinleri, sıcaklık dışında biyolojik ve kimyasal birçok stres faktörü tarafından da transkripsiyonel olarak düzenlenir. Bu nedenle stres proteinleri olarak da bilinirler (Ulusal, 2015).

Bitkilerde, yüksek ve düşük sıcaklık, ozmotik, tuzluluk, oksidatif, desikasyon, yüksek yoğunluklu ışınlamalar, yaralar ve ağır metaller gibi streslerin Hsp sentezini indüklediği belirlenmiştir (Al-Whaibi, 2011). Ayrıca bitkilerde bu protein ailesi,

yüksek ve düşük sıcaklık, kuraklık, tuzluluk gibi abiyotik stres koşullarının yanında bitkilerin normal gelişim aşamalarında da görev alır (Krishna vd., 1995).

Tüm ısı şoku proteinleri, karboksil uçlarındaki karakteristik ısı şoku (heat-shock) domaininin varlığıyla karakterize edilir. Moleküler ağırlıkları 10 kDa' dan 200' kDa' a kadar değişen ısı şoku proteinleri; moleküler ağırlıklarına ve fonksiyon gösterme mekanizmalarına göre sınıflandırılırlar. Isı şoku proteinleri bu kriterlere göre sHsp (küçük ısı şoku proteinleri), Hsp40 (J-proteinleri), Hsp60 (şaperoninler), Hsp70, Hsp90 ve Hsp100 (Clp proteinleri) olmak üzere kabaca altı sınıfa ayrılabilirler. Bu altı sınıf birbiri ile etkileşim içinde çalışarak hücredeki protein dengesini sağlarlar (Zorzi ve Bonvini, 2011).

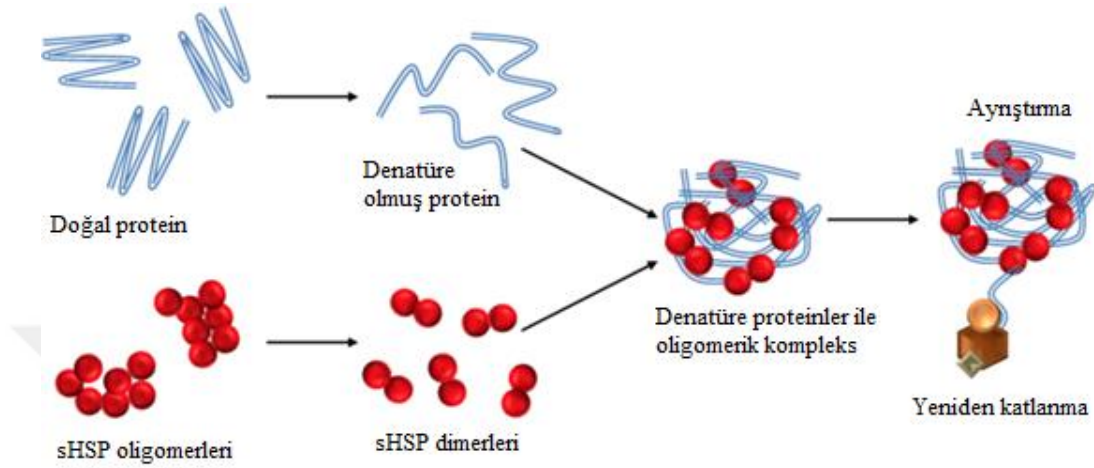
1.4.1. Küçük Isı Şoku Proteinleri (smallHsp)

Küçük ısı şoku proteinlerinin moleküler ağırlığı 15 ile 42 kD arasında değişmektedir (Al-Whaibi, 2011). Küçük ısı şoku proteini (sHsp) süper familyasına ait proteinler, dizi ve boyutta çeşitlilik gösterse de, karakteristik özellikleri şu şekildedir;

- (i) ~ 90 amino asit kalıntısı olan korunmuş bir α -kristalin domaininden oluşur,
- (ii) büyük oligomerlerden oluşmuştur,
- (iii) dinamik bir kuaterner yapıya sahiptir,
- (iv) protein agregasyonunu baskılayan stres koşulları ve şaperon aktivitesi ile indüklenir (Haslbeck vd., 2005).

sHsp'lerin en karakteristik özelliklerinden biri, büyük oligomerik yapılar olarak organize olma yetenekleridir (Haslbeck vd., 2005). Genellikle fizyolojik koşullar altında bitki hücrelerinde bulunmayan sHsp'ler, kuraklık, tuzluluk, okside türler ve düşük sıcaklıklar dahil olmak üzere stres ile uyarılır (Sun vd., 2002). Son kanıtlar, doğal olmayan konformasyonlarda proteinleri bağlayarak protein homeostazını koruduğunu ve böylece substrat agregasyonunu önlediğini göstermektedir (Haslbeck vd., 2005).

Bir N-terminal bölgesinden, ardından korunmuş α -kristalin bölgesi ve bir C-terminal bölgesinden oluşurlar (Haslbeck vd., 2005; Sun ve MacRae, 2005). Alfa kristalin bölgesi sHsp'lerin imza motifini oluşturur (Kim vd., 1998).



Şekil 1.3. sHsp'lerin denatüre proteinler ile oligomer kompleksi (URL-4)

1.4.2. Isı Şoku Proteini 40 (Hsp40)

Bütün ısı şoku proteini 40'lar (Hsp40) standart bir J-domaini ile karakterizedir. Ve bundan dolayı J-proteini olarak da adlandırılabilirler. J-protein ısı şoku ailesi üyeleri, hem prokaryotlarda hem de ökaryotlarda her yerde bulunur ve farklı hücre içi bölümlerde yerleşim gösterirler. J-proteinleri, Hsp70'in hücre rollerini belirlemeye yarayan büyük bir moleküler şaperon ailesini temsil eder (Rajan ve D'Silva, 2009).

Hsp40, Hsp70'e substrat gönderir. J-domaini, Hsp70'in ATPase domaini ile etkileşim kurar. Bu etkileşim Hsp70'in ATPase aktivitesini uyarır. Böylece Hsp40-Hsp70 çifti, substrat proteini ya katlar ya da bozunması için taşır (Tutar ve Tutar, 2010).

Antiparalel yönde sarmal II ve III 'ün yoğun olarak sıkıştırılması ile dört sarmaldan oluşur. His, Pro ve Asn (HPD) tripeptidi, iki ana sarmal (heliks II and heliks III) arasında bir döngü içinde olup, J-domaininin önemli bir imza motifidir (Laufen vd., 1999; Walsh vd., 2004). HPD tripeptidi, Hsp70'in ATPase aktivitesinin uyarılması için gereklidir (Walsh vd., 2004).

Domain organizasyonu temel alınarak J-proteinleri 4 tip (Tip I, Tip II, Tip III ve Tip IV) olarak sınıflandırılır. Tip I J-proteinleri DnaJ'de bulunan tüm domainlerin varlığını gösterir. Bunlar, proteinin geri kalanından 50-100 amino asit uzunluğunda esnek bir bağlayıcı olan "G/F bölgesi" ile ayrılan bir N-terminal J domaini içerir. Tip II proteinleri, çinko-parmak domaini dışındaki tüm domainlere sahiptir. Tip III J-proteinleri ise bir C-terminali J-domaini içerir ve hem G/F hem de çinko-parmak domainlerinden yoksundur. Çoğunlukla, J-domaini ilk iki tipte N-terminalinde bulunurken, Tip III'de herhangi bir bölgede bulunabilir. Tip IV J-proteinleri yakın zamanda tanımlanmış ve J-domaini ile belirgin dizi ve yapısal benzerliklere sahip olan ancak HPD motifi olmayan "J-benzeri proteinler" olarak sınıflandırılmıştır (Rajan ve D'Silva, 2009).

1.4.3. Isı Şoku Proteini 60 (Hsp60)

Şaperon veya şaperoninlerin Hsp60 ailesi, hücrel şaperon makinelerinin temel bileşenleridir. Bunlar, plastidler, mitokondri ve tüm ökaryotların ve öbakterilerin sitoplazmasında bulunan moleküler şaperonların en korunmuş ve her yerde bulunabilen sınıfıdır (Martin vd., 1992). Hsp60 sınıfının genellikle Rubisco gibi plastid proteinlerin desteklenmesinde önem taşıdığı kabul edilmektedir. Şaperoninler, doğal formlarını elde etmek için yeni sentezlenmiş ve yeni translokasyona uğramış proteinlere yardımcı olarak çok önemli bir rol oynar (Wang vd., 2004).

Hücredeki çeşitli polipeptidlerin birincil dizisi, α/β katlanması ile çoklu domainlerden oluşur. Karmaşık topolojilere sahip bu tür proteinler, özel katlama makinelerinin yardımını gerektirir. Şaperoninler, ~800 kDa'luk yüksek moleküler ağırlıktaki, oligomerik kompleksleri oluştururlar. Her biri merkezi bir boşluğu çevreleyen iki heptamerik halka tarafından oluşturulan büyük bir kafes benzeri yapı meydana getirir. Heptamer, her biri 57 kDa'luk molekül ağırlığına sahip benzer alt birimlerden yapılıdır (Hartl ve Hartl, 2002).

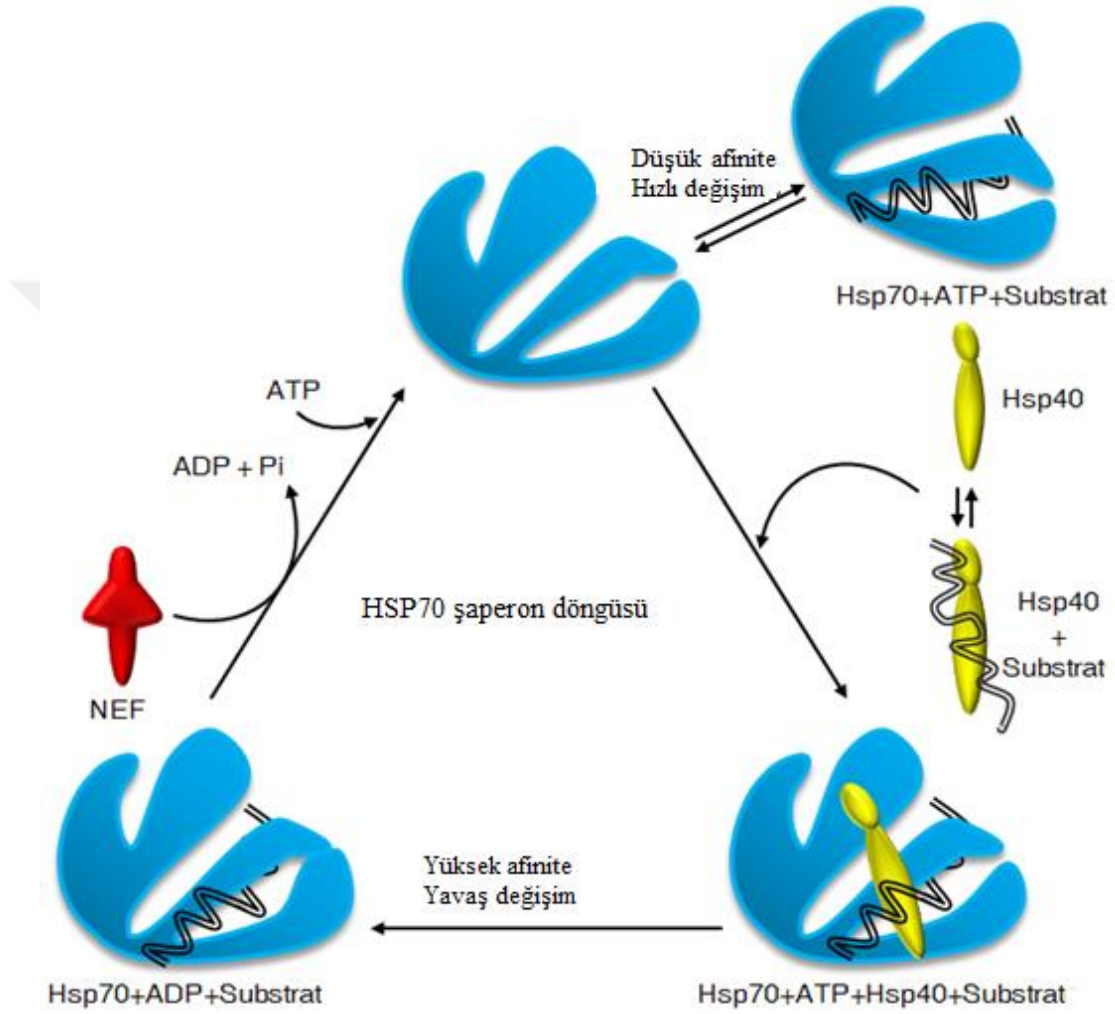
Şaperoninler, dizilemede yapısal olarak benzer ve oldukça çeşitli iki gruba ayrılır. Her iki grup da iki farklı evrimsel çizgi boyunca bölünür. Tip I şaperoninler bakteriyel sitoplazmada (GroEL), mitokondri (Hsp60) ve kloroplastlar (Rubisco bağlayıcı protein) gibi endosimbiyotik olarak ilişkili organellerde bulunurlarken, Tip

II şaperoninler ise arkeobakteriyel sitoplazmada (termosome) ve ökaryotik sitozolde (CCT/TRiC) bulunur. GroEL, Hsp60 ve termozom, termal olarak indüklenebilir ısı şoku proteinleri olup, stres koşulları altında, yanlış katlanmış proteinlerin onarılması gibi, ilave fonksiyonel bir rol oynar (Horwich vd., 2007). Stres ile indüklenen GroEL'in aksine, TRiC, yapısal olarak ifade edilir ve temel proteinlerin katlanması için gereklidir (Martin vd., 1992).

1.4.4. Isı Şoku Proteini 70 (Hsp70)

Isı şoku proteini 70 (Hsp70), protein katlanması, membranlar arasında protein taşınması, protein aktivitesinin modülasyonu, protein yıkımının düzenlenmesi ve geri döndürülemez protein agregasyonunun önlenmesi dahil olmak üzere çeşitli hücre işlemlerinde yer alan moleküler şaperonlardır. Hemen hemen tüm organizmalarda ve hemen hemen tüm hücre içi bölümlerde görev alırlar (Su ve Li, 2008). Substratı benzersiz şekilde katlayacak en gelişmiş yapıya sahiptirler (Tutar ve Tutar, 2010). Hsp70 şaperon sınıfı, iki ana fonksiyonel domaine sahiptir; proteinin N-terminal kısmındaki ATPaz domaini ve proteinin C-terminal kısmındaki bir peptit bağlayıcı domain (SBD) (Sung vd., 2001). Hsp70'ler, nükleotidi hidrolize eden ve substrat bağlama domainine (SBD) bir sinyal ileten ATPaz domainine sahiptir. Domain, bir kapak ve peptit bağlayıcı oluktan oluşur. SBD, substrat için hidrofobik ortam sağlar ve substrat proteinleri için izole alan oluşturur (Tutar ve Tutar, 2010). Hsp70'ler asla yalnız işlev görmezler. Değişmez bir J proteini ve hemen hemen her zaman ortak olarak bir nükleotid değişim faktörü (NEF) gerektirirler (Kampinga ve Craig, 2010). Hsp70 proteini ATP'ye bağlandığında, kapak açıktır ve peptitler nispeten hızlı bir şekilde bağlanır ve serbest kalır. Hsp70 proteinleri ADP'ye bağlandığında, kapak kapatılır ve peptitler substrat bağlama domainine sıkı sıkıya bağlıdır (Mayer vd., 2001). ADP'nin ve dolayısıyla substratın salınması daha sonra da döngünün devam etmesine izin veren nükleotid değişim faktörü ile gerçekleştirilir (Hartl ve Hartl, 2002). Substrat bağlama domaini (SBD), her biri dört zincirli, iki antiparalel β -yaprak'tan oluşan β -sandviç yapısına sahiptir. İki β -yaprak arasında yer alan peptit bağlayıcı bölge, doğada hidrofobiktir ve sarmal bir kapakla kapatılmış derin bir cep içerir. Sarmal kapak yapısı, A, B, C, D ve E olmak üzere beş sarmaldan oluşur ve şaperonun substrat afinitesini yönetir. İki domain, yüksek oranda korunan kısa bir

bağlayıcı segment (~ 6 amino asit kalıntısı) ile bağlanır (Mayer vd., 2001). Ayrıca, Hsp70 ve sHsp'ler esas olarak moleküler koruyucu olarak hareket ederler ve bitki hücresinin ısı stresinin zararlı etkilerinden korunmasında önemli bir rol oynamaktadırlar (Rousch vd., 2004).



Şekil 1.4. Hsp70'in Şaperon Döngüsü (URL-4)

1.4.5. Isı Şoku Proteini 90 (Hsp90)

Hsp90, ökaryotlarda en fazla bulunan proteinlerden biridir ve stresli olmayan koşullar altında bile toplam çözünür proteinin ~% 1'ini oluşturur (Buchner, 1999). Diğer şaperonlardan farklı olarak Hsp90, yeni protein katlanmasında etkili değildir. Katlanmanın sonraki bir aşamasında, doğala yakın bir durumda olan substrat proteinlerine bağlanır (Young vd., 2001). Hsp90, birçok şaperon kompleksinde

Hsp70'i bağlayabilir (Pratt ve Toft, 2003). Bitki hücrelerindeki Hsp90, bitkilerin büyümesini kontrol eder (Krishna vd., 1995). Ek olarak, Hsp90 hücre döngüsü kontrolü, transkripsiyonel düzenleme ve sinyal iletiminde yer alır (Tutar ve Tutar, 2010).

Hsp90, 4 bölümden meydana gelir. Bunlar, yüksekçe korunmuş N-terminal ve C-terminal kısım, orta kısım ve N-terminal ile orta kısım arasında bulunan yük taşıyıcı kısımdır. N-terminal kısmı, 25 kDa ağırlığındadır ve ATP'nin bağlanmasından sorumludur. ATP dışında da birçok ko-şaperonlar ve bazı Hsp90 inhibitörleri bu kısma bağlanabilir. C-terminal kısmı 12 kDa ağırlığındadır ve Hsp90'ın biyolojik olarak aktif olan formuna homodimerizasyonundan sorumludur. Orta kısım ise 40 kDa ağırlığında olup N-terminal kısmına bağlı olan, fazla derecede yüklü kısımdır (Ulusal, 2015).

1.4.6. Isı Şoku Proteini 100 (Hsp100)

Hücredeki protein kalite kontrolünün sürdürülmesi, yeni sentezlenmiş proteinlerin katlanmasını, katlanmamış ve yanlış katlanmış proteinlerin yeniden katlanmasını ve yeniden etkinleşmesini, makromoleküler protein yapılarının birleştirilmesini ve demontajını ve degradasyon için anormal ve inaktif proteinlerin hedeflenmesini içeren birkaç adımın başarılmasını gerektirir. Hücrenin şiddetli strese maruz kalması üzerine, proteinlerin çoğu doğal yapılarını kaybeder ve agregat oluşturan spesifik olmayan etkileşimlere girer. Hsp100/Clp, şiddetli stres sonrası toplanan hemen hemen her proteini çözme yeteneğine sahip bir moleküler şaperon sınıfıdır. Normal büyüme koşullarında gerekli değildir ve aşırı sıcak veya diğer sert stresler tarafından tetiklenirler. ClpA, ATP'ye bağımlı proteazın bir bileşeni olarak keşfedilen Hsp100 sınıfının ilk proteini olmuştur (Lund, 2001).

Şaperonların Hsp100 sınıfı, ATPase'lerin AAA + süper familyasına aittir. Bu aile, α -sarmal domain ve bir Walker tipi nükleotid taşıyıcı domain içeren, ~ 200-250 amino asitin temel çekirdeğinin varlığı ile tanımlanır (Bukau vd., 2006).

2. KURAMSAL ÇERÇEVE

Doğu Asya karpuz çeşidinin taslak genomu ($2n = 2 \times = 22$) 2013 yılında yayınlanmıştır. Genom dizileri bilgisi, temel biyolojik araştırmalar ve ürün ıslahı için vazgeçilmezdir. Kapsamlı genomik ve transkriptom analizleri, karpuz genomunun yapısı ve evrimi, karpuz popülasyonlarının genetik çeşitliliği ve yapısı, meyve kalitesi ve floem bazlı vasküler sinyalizasyon gibi önemli biyolojik süreçlerin moleküler mekanizmaları hakkında bilgi vermektedir. Bu nedenle taslak karpuz genom dizisi, bitki araştırmaları ve mahsul genetik iyileştirme için önemli bir kaynağı temsil eder (Guo vd., 2013).

Abiyotik stresler ve stres kombinasyonları, bitki büyümesini ve verimini azaltarak tarımsal üretimi etkileyen ve dünya çapında üretim ve gıda güvenliğini kısıtlayan ana nedenlerden biridir (Georgii vd., 2017; Fahad vd., 2017). Bitki tepkilerinin ve çeşitli abiyotik stres senaryolarına adaptasyonların moleküler bir şekilde anlaşılması, değişen iklim koşulları altında ürün çıkışını sağlayabilen yetiştirme ve çiftçilik stratejilerinin geliştirilmesi için çok önemlidir. Bu nedenle, moleküler düzeyde kuraklık ve ısı etkileşimlerini çalışmak, stres bileşenlerini ve stres türleri arasındaki ilişkileri tanımlamak için önemlidir (Georgii vd., 2017).

Çevresel stres faktörlerine karşı bitki tepkilerinin fizyolojik, hücresel ve moleküler mekanizmalarının anlaşılmasında önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Strese verilen cevaplar ile birlikte genellikle bitki transkriptomunda, proteomda ve metabolomda da büyük değişiklikler meydana geldiği görülmüştür (Ahuja vd., 2010). Strese karşı bitki tepkisinin çeşitli mekanizmalarını ve edinilen stres toleransındaki rollerini açıklamak, bu nedenle pratik ve temel önem taşımaktadır (Wang vd., 2004).

Yapılan bazı çalışmalarda, Hsp 20 ailesinin soya fasulyesi genomundaki evrim sonucu toplam 23 gen kopyası içerdiği belirlenmiştir. Lopes-Caitar ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, 51 adet *GmHsp 20* adayının çoğunun yüksek sıcaklık altında indüklendiğini, ancak bu ailenin diğer üyelerinin de yüksek sıcaklık ile ilgisi olmayan normal hücresel fonksiyonlarda rol oynayabildiğini ortaya çıkarılmıştır (Lopes-Caitar vd., 2013).

Ayrıca domates bitkisinde Wang ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, *Hsp* gen ailesini indükleyen ısı şoku transkripsiyon faktörü (Hsf), kuraklık stresi altında otofajinin indüklenmesindeki oynadığı pozitif rolüyle, kuraklık stresine karşı domates bitkisinin toleransında kritik bir rol oynadığını göstermişlerdir (Wang vd., 2015).

Kuraklık stresi altındaki ayçiçeği bitkisinde de bu ısı şok proteinlerinin sentezi ve mRNA'larının birikimi araştırılmış olup, stres altındaki bitkilerin kök ve gövdelerinde biriktiği gözlemlenmiştir. Ayrıca aynı bitkilerde ısı stresi uygulandığında bu genlerin ifadesi karşılaştırılmış ve benzer olarak yüksek seviyelerde tespit edilmiştir fakat bu iki stres altında farklı moleküler ağırlıktaki ve farklı izoelektrik yükteki ısı şoku proteinleri ifade edilmiştir. Dahası kuraklık ve sıcaklık streslerinde ifade edilen proteinlerin farklı dokularda yoğunlaştığı bulunmuştur (Almoguera vd., 1993).

2016'da yapılan bir çalışmada ise okaliptüs bitkisinde, Hsp70 proteinleri genom çapında incelenmiştir. Bu çalışmaya göre okaliptüs genomunda Hsp70 proteinlerini kodlayan 21 gen tespit edilmiştir (Çelik Altunoğlu, 2016). Başka bir çalışmada ise kavak bitkisinde 34 adet *Hsp70* geni olduğu belirlenmiştir (Yer vd., 2016).

Çalışmamızda karpuz bitkisi genomundaki ısı şoku proteini genlerinin, biyoinformatik araçlar kullanılarak tanımlanması ve karakterizasyonu ile bu genlerin kombine kuraklık ve sıcaklık streslerinde gen ifadelerinin analiz edilmesi amaçlanmış, böylece abiyotik strese dayanıklı bitki üretimi için öncü olması hedeflenmiştir.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kimyasal Madde ve Kitler

Sıvı azot

Hoagland (Phyto Technology Laboratories, ABD)

PEG-6000 (Applchem, Almanya)

Trizol Reagent (Ambion, ABD)

İzopropanol (Applchem, Almanya)

Kloroform (Applchem, Almanya)

Etanol (Kimetsan, Türkiye)

DNase I, RNase-free (Thermo Scientific, ABD)

EDTA (Applchem, Almanya)

iScript cDNA synthesis kit (BIO-RAD, ABD)

Rotor-Gene SYBR Green PCR Kit (Qiagen, Almanya)

PZR reaksiyon tüpü (Greiner bio-one, ABD)

Agaroz (Applchem, Almanya)

Nucleic Acid Staining Solution-Jel Boyası (İntron Biotechnology)

3.1.2. Kullanılan Cihaz ve Aletler

Derin Dondurucu -20 °C - Buzdolabı +4 (Arçelik 4252N, Türkiye)

Derin Dondurucu -82 °C (Glacier Nuair Nu-9668E, Meksika)

Distile Su Cihazı (Protek Lab, Türkiye)

Buz makinesi (Hoshizaki, Avrupa Ltd.)

Thermal Cycler Isı bloğu (Thermo, ABD)

Thermo-Shaker (Biosan Ts-100, Letonya)

Hassas Terazı (Presica 350-8519, İsviçre)

Mikropipet (Thermo, ABD)

Mikrosantrifüj (N2631-0007 Star Lab, Kore)

Multipurpose Vorteks (Wisd Laboratory Ėnstruments, Kore)

Phmetre (Jenco Quality Instruments, Çin)

Manyetik Karıştırıcı (Wisd Laboratory MSH-20A, Kore)

Mikrodalga Fırın (Arçelik, Türkiye)

Spektrofotometre (Thermo Sci. Multiskan Go, Finlandiya)

Soğutmalı Santrifüj (Hetrich Micro 220/220R, Almanya)

Elektroforez (Thermo Scientific EC1000XL2 ve EC300XL2, ABD)

Jel görüntüleme sistemi Quantum ST5 (Vilber Lourmat, Fransa)

Termal Döngü Cihazı (Thermo, ABD)

Real time PZR Cihazı (Rotor-Gene®, Qiagen, Almanya)

Otoklav (Nüve, Türkiye)

Biyogüvenlik Kabini-Class II (Tezsan, Türkiye)

3.1.3. Bitki Materyali

Çalışmada kullanılacak bitki olan *Citrullus lanatus* türü için gerekli Crisby karpuz tohumları Monsanto Gıda ve Tarım Tic. Ltd. Şti (Antalya)' den sağlanmıştır.

Bu tohumların ekilmesi, çimlendirilmesi ve büyütülmesi işlemleri Kastamonu Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü Araştırma Laboratuvarı ve iklimlendirme odasında gerçekleştirilmiştir. Büyümesi tamamlanan bitkilere belirlenen süre aralıklarında kuraklık ve sıcaklık stresi birlikte uygulanmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Karpuz Genomunda Isı Şoku Genlerinin Belirlenmesi

Öncelikle karpuz genomunda çalışılacak olan *Hsp* genlerinin belirlenmesinde, HSPİR (Heat Shock Protein Information Resource) veri tabanı kullanılmıştır. Bu veri tabanı kullanılarak bütün bitkilerdeki *Hsp* genlerine ait genomik, kodlayan bölge ve protein dizileri elde edilmiştir.

Bu diziler için Cucurbit Genomics veri tabanı kullanılarak BLASTP (Protein Blast Sekans Karşılaştırması) yapılmış ve istatistik model olan Hidden Markov Model (HMM) ile korunmuş bölgelere göre taranıp, seçim yapılmıştır. Seçilen dizilerin korunmuş bölgeleri, Pfam (<https://pfam.xfam.org/>) veri tabanı ile kontrol edilmiştir.

Karpuzda bulunan bu *Hsp* dizilerinin, ProtParam Tool (<https://web.expasy.org/protparam/>) veri tabanı yardımı ile değişkenlik durumları, moleküler ağırlıkları ve izoelektronik etki değerleri (pI) elde edilmiştir.

3.2.2. Karpuz Genomunda Isı Şoku Genlerinin Kromozomal Yerleşimlerinin Belirlenmesi ve Gen Yapısının Tahmini

Cucurbit Genomics veri tabanı (<http://cucurbitgenomics.org/>) kullanılarak karpuz bitkisinde bulunan *Hsp* genlerinin kromozomal yerleşimleri yapılmış ve bu yerleşim MapChart programı ile kromozomlar üzerinde gösterilmiştir.

Karpuz bitkisinde bulunan tandem ve segmental duplikasyonların belirlenmesinde yine Cucurbit Genomics veri tabanı kullanılmıştır.

Gene Structure Display Server (<http://gsds.cbi.pku.edu.cn/>) (Hu vd., 2015) programı

kullanılarak da genlerin ekzon-intron bölgeleri belirlenmiştir.

3.2.3. Karpuz Bitkisinde Isı Şoku Genlerinin Dizi Hizalanması

Elde edilen karpuz ısı şoku proteini dizilerinin, MEGA7 (Kumar vd., 2016) programı aracılığıyla ClustalW programı kullanılarak çoklu dizi hizalaması yapılmıştır.

3.2.4. Filogenetik Analizler

ClustalW programı ile hizalanmış diziler kullanılarak filogenetik ağaç çizilmiştir. Filogenetik ağaç çizilirken Maximum Likelihood metodu (Milligan, 2003) kullanılmıştır. Bu metod aracılığı ile 1000 tekrarlı ‘bootstrap’ analizleri ile filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Çizilen filogenetik ağaç iTOL veri tabanı kullanılarak görselleştirilmiştir.

3.2.5. Korunmuş Motiflerin ve Ekzon-İntron Yapılarının Belirlenmesi

Evrime ile korunmuş, kısa DNA, RNA ya da protein dizilerine motif denir. Bu motiflerin tanımlanması ve anlaşılması, moleküler ölçekte büyük önem taşır.

Korunmuş motiflerin tanımlanmasında Meme-suite (Bailey vd., 2015) veri tabanı kullanılmıştır. Tanımlama yapılırken motif sayısı 20, motif genişliği optimum ≥ 2 ve ≤ 300 olarak seçilmiştir. Elde edilen motiflerin InterProScan ve InterPro veri tabanları ile de taraması yapılmıştır (Quevillon vd., 2005)

Karpuz *Hsp* genlerinin yapısının daha iyi anlaşılabilmesi için Gene Structure Display Server (Hu vd., 2015) kullanılarak ekzon-intron yapıları belirlenmiştir.

3.2.6. Isı Şoku Gen Ontoloji Analizleri

Karpuz *Hsp* dizilerinin fonksiyonel analizi için Blast2Go programı kullanılmıştır (Conesa ve Götz, 2008). Öncelikle programa, karpuz bitkisine ait *Hsp*’lerin aminoasit dizileri yüklenmiştir. Ardından programda BLAST, interpro, mapping,

annot, chart, graphs gibi adımlar izlenerek GO sınıflandırması ile biyolojik işlevler, hücresel içerikler ve moleküler fonksiyonlar elde edilmiştir.

3.2.7. Karpuzdaki Isı Şoku Proteinlerinin Diğer Türler İle Karşılaştırmalı Fiziksel Haritasının Çıkarılması

Karpuz bitkisindeki Hsp'lerin amino asit dizileri ve diğer türlerin (*Arabidopsis thaliana*, *Oryza sativa*, *Glycine max*, *Populus trichocarpa*, *Vitis vinifera* ve *Zea mays*) peptid dizileri karşılaştırılmıştır ve bunun için Blastp programı kullanılmıştır. Cucurbit Genomics veri tabanından bulunan verilerin E-değeri $\leq 1e-5$ ve en az %70 benzerlik göstermelerine dikkat edilerek anlamlı kabul edilenler seçilmiştir. Karpuz bitkisindeki Hsp genleri ve karşılaştırılan bu türlerdeki Hsp genleri arasındaki ortolog ilişkileri belirlenmiş ve Mapchart programı ile karşılaştırmalı fiziksel haritaları çıkarılmıştır.

3.2.8. Homolog ve Homolog Olmayan Değişim Oranlarının Hesaplanması

Homolog ve homolog olmayan değişim oranlarının hesaplanması için karpuz bitkisindeki duplikasyona uğramış Hsp genleri, *Arabidopsis thaliana*, *Oryza sativa*, *Glycine max*, *Populus trichocarpa*, *Vitis vinifera* ve *Zea mays* türleri arasındaki ortolog gen çiftleri ClustalW programı aracılığıyla çoklu dizi hizalaması yapılmıştır. Ardından Hsp genlerinin amino asit dizileri ile kendi orjinal komplementer DNA dizilerinin hizalanması metoduyla homolog (Ks) ve homolog olmayan (Ka) değişim oranları hesaplanmıştır. Bu hesaplama için PAL2NAL programı kullanılmıştır (Suyama vd., 2006). Bu şekilde her Hsp geni için duplikasyonlar ve ayrılma zamanı (milyon yıl önce, MYÖ), her homolog bölge ve yıla denk gelen λ değişimlerinin homolog mutasyon oranları kullanılarak hesaplanmıştır ($T = Ks/2\lambda$ ($\lambda = 6.5 \times 10^{-9}$) (Lynch ve Conery, 2000; Çelik Altunoğlu vd., 2017).

3.2.9. Karpuz Bitkisi için Belirlenen Isı Şoku Proteinlerinin Homoloji Modellemesi

Homoloji modellemesi, bir proteinin üç boyutlu (3D) yapısının, yapısı çözümlenmiş olan bir ya da daha fazla protein yapısı üzerinden çözümlenmesidir (Kara, 2016). Karpuz bitkisindeki *Hsp* genlerinde homoloji modellemesi için öncelikle BLASTP taraması yapılmıştır. Ardından karpuz *Hsp* genlerine benzer dizilerin ve bilinen üç boyutlu yapıya sahip en uygun örneğin belirlenmesi için Protein Data Bank (PDB) taraması yapılmıştır (Berman vd., 2000). Sonuç olarak elde edilen veriler, Phyre2 programı kullanılarak homoloji modellemesi yapılmıştır ve karpuz bitkisindeki *Hsp* genlerine ait proteinlerin muhtemel üç boyutlu yapıları bulunmuştur (Kelley vd., 2015).

3.2.10. Karpuz Bitkisinde Isı Şoku Genlerini Hedef Alan miRNA'ların Bilgisayarlı Tanımlanması

MikroRNA'lar, gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynayan küçük, yüksek oranda korunmuş kodlayıcı olmayan RNA molekülleridir (MacFarlane & Murphy, 2010). Bu çalışmada da karpuz bitkisindeki *Hsp* genlerinde miRNA kontrollü gen hedeflerinin tanımlanması için miRBase v20.0 (<http://www.mirbase.org/>) programı kullanılarak önceden bilinen, bitki miRNA genlerini hedef alan miRNA'ları tanımlanmasında bitki miRNA veri tabanı kullanılmıştır (Budak ve Akpınar, 2015).

psRNA Target, bu küçük RNA'ların hedef transkriptlerini tanımlamak için özel olarak geliştirilmiştir. Bunun için önceden tanımlanmış bir puanlama şeması kullanılarak küçük RNA'lar ve hedef arasındaki tamamlayıcı eşleştirmenin analizi yapılır (<http://plantgrn.noble.org/psRNATarget/home>). Bundan dolayı psRNA Target Server kullanılarak da bilinen tüm bitki miRNA'ları ile karpuz bitkisindeki *Hsp* gen transkriptleri hizalanarak varsayılan tüm bitki ve karpuz miRNA'ları belirlenmiştir (Dai ve Zhao, 2011).

3.2.11. Transkriptom Verileri Kullanılarak Karpuz Bitkisinde Isı Şoku Genlerinin İfade Profillerinin Belirlenmesi

Karpuz bitkisindeki *Hsp* genlerinin ekspresyonlarını inceleyebilmek amacıyla transkriptom verileri kullanılmıştır. Bu yüzden RNA-Seq analizi için tüm Illumina HiSeq okumaları, SRA (Sequence Read Archive) adındaki açık bir veri bankası arşivinden sağlanmıştır. Ulaşılan tüm okumaların “.sra” ham dizi verisi indirilmiştir ve NCBI SRA Toolkit'in fastq-dump komutuyla “fastq” formatına dönüştürülmüştür. Elde edilen okumalardan kalitesi düşük olanlar çıkarılarak kalan tüm temiz okumalara kalite kontrolü yapmak amacıyla FastQC analizi yapılmıştır.

Elde edilen tüm okumaların normalizasyonu (normalized) ve dönüşümü (transform) CLC Genomic Workbench version 7.5 programı ile yapılmıştır. Hiyerarşik kümeleme haritası (heatmap) ve RPKM değerlerinin log₂'ye dönüştürülmesi ile gen ifade ölçümleri Permut Matrix programı kullanılarak yapılmıştır. Karpuzun yaprak ve kökleri kullanılarak yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen veriler Tablo 3.1'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Transkriptom analizi için kullanılacak örnekler ve erişim numaraları

Giriş numarası	Açıklaması
SRR1724899	Döllenmeden sonra 10 günde toplanmış meyve
SRR1724900	Döllenmeden sonra 18 günde toplanmış meyve
SRR1724901	Döllenmeden sonra 26 günde toplanmış meyve
SRR1724902	Döllenmeden sonra 34 günde toplanmış meyve
SRR1724903	Döllenmeden sonra 42 günde toplanmış meyve
SRR1724943	Döllenmeden sonra 50 günde toplanmış meyve
WM-UR-1/SRR1001435	10 günlük beyaz meyve
WM-UR-2/SRR1001436	10 günlük beyaz meyve
WM-IM-1/SRR1001437	18 günlük açık pembe meyve
WM-IM-2/SRR1001438	18 günlük açık pembe meyve
WM-PM-1/SRR1001439	28 günlük Pembe meyve
WM-PM-2/SRR1001440	28 günlük Pembe meyve
WM-MA-1/SRR1001441	34 günlük Olgun Kırmızı meyve
WM-MA-2/SRR1001442	34 günlük Olgun Kırmızı meyve
SRR494474	WMN-Floem1
SRR518988	WMN-Floem2
SRR518988	WMN-Floem3
SRR494479	WMN- Vasküler doku
SRR518992	WMN- Vasküler doku 2
SRR518993	WMN- Vasküler doku 3

3.2.12. Karpuz Örneklerinin Yetiştirilmesi ve Stres Uygulamaları

Monsanto Gıda ve Tarım Tic. Ltd. Şti (Antalya)'den temin edilen karpuz tohumları yıkanarak 2 saat distile suda bekletilmiştir. Süre sonunda tohumlar, içerisinde vermikülit bulunan plastik saksılara ekilmiştir. Her bir saksıya 5 tohum olacak şekilde ekim yapılmıştır. Ekim tamamlandıktan sonra saksılar Hoagland solüsyonu (Hoagland & Arnon, 1950) ile sulanmış ve iklimlendirme kabinine kaldırılmıştır. Bitki iklimlendirme kabininde 24 ± 2 °C ve 16 saat ışık ve 8 saat karanlık fotoperiyotta $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ışık şiddetinde yaklaşık 35 gün boyunca yetiştirilmiştir. Ekilen tohumlar her gün düzenli olarak Hoagland solüsyonu ile sulanmıştır.

Hoagland solüsyonu: 1,63 g Hoagland, 2L distile su içerisinde çözündürülür. Tamamen çözünen solüsyonun pH'ı 5,8'e ayarlanır. Son olarak hazırlanan solüsyonun ışıktan etkilenmemesi için folyo ile sarılarak muhafaza edilir.

Karpuz bitkisinde stres uygulaması yapılması için %20'lik polietilen glikol 6000 (PEG-6000) çözeltisi hazırlanmıştır.

Polietilen glikol (PEG), molekül ağırlığı yüksek bir maddedir ve bitkinin su alımını düzenleyerek, ortama istenilen su stresini uygulamayı sağlar. Ek olarak PEG-6000 bitki kökleri tarafından alınmamakta ve toksik etki oluşturmamaktadır (Çarpıcı Budaklı ve Erdel, 2015). PEG, bulunduğu ortamın, ozmotik potansiyelini modifiye ederek bitkilerde su alımını kontrol eder ve bu şekilde kuraklık stresinin oluşmasını sağlar (Tiryaki, 2016).

Yaklaşık 5 haftada büyüyen bitkilere kuraklık ve sıcaklık stresi kombine olarak uygulanmıştır. Beş hafta sonunda bitkilere PEG çözeltisi verilerek iklimlendirme kabininin sıcaklığı 50°C'ye ayarlanmıştır. Baloglu vd. (2014)'nin salatalık bitkisinde kullanmış oldukları parametreler göz önüne alınarak ve morfolojik özelliklerine de bakılarak bitkilerden örnekler 0., 30.dk, 1.sa ve 2.sa'lerde toplanmıştır. 0. Saatte toplananlar kontrol olarak kullanılmıştır. Bitkilerden kök, gövde, yaprak ve sürgün olmak üzere 4 farklı örnek toplanmıştır. Toplama işlemi yapılırken alınan tüm örnekler saf su ile yıkanmış ve etiketleme yapılmış folyo ile sarılarak sıvı azot

ortamında muhafaza edilmiştir. Ardından -80°C 'ye kaldırılmıştır.



Fotograf 3.1. Ekilen karpuz tohumlarının ilk hafta sonundaki görünümüleri



Fotograf 3.2. Ekilen karpuz tohumlarının 4. hafta sonundaki görünümüleri

3.2.13. Moleküler Genetik Metodlar

3.2.13.1. Bitki örneklerinden RNA izolasyonu yapılması

Toplanan karpuz bitkilerinden toplam RNA izolasyonu, Trizol reaktifi ile yapılmıştır. İzolasyon basamakları aşağıda sırasıyla verilmiştir.

1. Öncelikle izolasyonda kullanılacak bütün porselen havanlar 121°C’de steril edilmiştir.
2. Steril havanlar sıvı azot yardımıyla soğutulmuştur.
3. Soğutulmuş havanların içerisinde -80°C’de muhafaza edilen bitki örneklerinden koyularak tamamen toz haline gelene kadar ezilmiştir. Her bir örnek için (kök, gövde, yaprak, sürgün) aynı işlem uygulanmıştır.
4. Toz halindeki örnekler 2 ml’lik tüplere ~100 mg örnek olacak şekilde alınmıştır. Bu esnada da örneklerin ısınmamasına dikkat edilmiştir.
5. Daha sonra tüplerin üzerine 1 ml Trizol eklenerek homojenize edilmiştir.
6. Homojenize olmuş örneklerin nükleoprotein komplekslerinin tamamen ayrıştırılmasını sağlamak için 20 dk. 1200 rpm’de Thermo Shaker kullanılarak inkübe edilmiştir.
7. İnkübasyon sonrasında örnekler, 15000 rpm’de 10 dk santrifüj edilmiştir.
8. Santrifüj tamamlandığında tüplerde 3 faz görülür. Bu üç fazdan en üstteki fazda RNA’lar bulunur.
9. Üst faz dikkatlice alınarak (~900 µl) farklı bir tüpe aktarılmıştır. Üzerine her 900 µl örnek için 200 µl kloroform eklenerek homojenize edilmiştir ve 5-6 dk. oda sıcaklığında bekletilmiştir.
10. Daha sonra örnekler 4°C’de 15000 rpm’de 20 dk. santrifüj edilmiştir.
11. Santrifüj sonrasında üst faz dikkatlice alınarak yeni bir tüpe aktarılmıştır ve üzerine 1:1 oranında izopropanol eklenmiştir. Ardından 10 dk. oda sıcaklığında inkübe edilmiştir.
12. İnkübasyondan sonra 10 dk. oda sıcaklığında 15000 rpm’de santrifüj edilmiştir.
13. Bunun ardından tüplerde RNA pelleti elde edilmiştir.
14. RNA pelleti % 70’lik 1 ml etanol ile yıkanarak, 15000 rpm’de 5 dk. santrifüj edilmiştir.

15. Etanolün tamamen uçması beklendikten sonra RNA örneklerine 30 µl DEPC'li su ile muamele edilerek çözünmesi sağlanmıştır.
16. Çözünen örneklerin saflığı ve kalitesini kontrol etmek amacıyla spektrofotometre (MultiScanGo-Thermo) cihazı ile 260/280 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür.
17. Konsantrasyonlarına bakılan RNA örnekleri -80°C'ye kaldırılmıştır.

% 0,1'lik DEPC su hazırlama:

1 ml DEPC 1000 ml distile suda çözüldükten sonra oda sıcaklığında 12 saat inkübe edilip ve ardından 121°C 'de 20 dk otoklavlanmıştır.

3.2.13.2. DNaz muamelesi

İzole edilen RNA örneklerinin konsantrasyon ölçümleri yapıldıktan sonra örneklerdeki DNA kalıntılarının tamamen temizlenmesi amacıyla DNase enzimi uygulaması yapılmıştır. Bunun için DNaseI (RNase-free, Thermo Scientific, ABD) enzimi kullanılmıştır. Toplam hacim 30 µl olacak şekilde ayarlanmıştır. DNase için kullanılacak RNA örneklerinin miktarı izolasyon sonrası konsantrasyonlarına göre belirlenmiştir. Kullanılacak RNA miktarı = 3000/RNA konsantrasyonu şeklinde hesaplanmıştır.

Tablo 3.2. DNase reaksiyonu için uygulanan protokol

Bileşenler	Her örnek için miktar
RNA örneği	Konsantrasyona göre değişken
Tampon	3 µl
DNase	3 µl
dH ₂ O (Nükleaz içermeyen)	Son hacim 30 µl'ye tamamlanacak
37°C'de 30 dk inkübasyona bırakılır	
50mM EDTA	3 µl
65°C'de 10 dk. inkübasyona bırakılır	

DNase işlemi sonrasında da örneklerin konsantrasyonları ölçülmüş ve agaroz jel elektroforezinde kalitesi kontrol edilmiştir.

3.2.13.3. Komplementer DNA sentezi

cDNA sentezi, olgun mRNA'dan DNA sentezleme işlemine denir. Bu işlem, Revers transkriptaz enzimi ile gerçekleştirilir. Oligo (dT)'ler mRNA'ya bağlanarak tek iplikli cDNA molekülü elde edilir.

cDNA sentezini yapmak için Bio-Rad (ABD) cDNA sentez kiti kullanılmıştır. Kullanılacak RNA örneğinin miktarı için DNase sonrası ölçülen RNA konsantrasyonları esas alınmıştır. RNA miktarını hesaplamak için;

$$\text{Eklenecek RNA örneği miktarı} = 1000/\text{DNase sonrası RNA konsantrasyonu}$$

Bio-Rad cDNA sentez protokolüne göre toplam hacim 20 µl olacak şekilde hazırlanmıştır.

Tablo 3.3. cDNA sentezi için gerekli reaksiyon protokolü

Bileşenler	Her örnek için miktar
RNA örneği	DNase konsantrasyonuna göre değişken
5X Reaksiyon Karışımı	4 µl
Revers Transkriptaz	1 µl
dH ₂ O (Nükleaz içermeyen)	Son hacim 20 µl'ye tamamlanacak

Reaksiyon için karışım hazırlandıktan sonra Thermalcycler (Thermo) cihazında her bir döngü için ilk olarak 5 dk 25⁰C'de, 20 dk 46⁰C'de, 1 dk 92⁰C'de inkübe edilmiştir ve reaksiyon tamamlandıktan sonra sıcaklık 4⁰C'ye düşmüştür. Bu şekilde cDNA sentezi tamamlanmıştır. Elde edilen cDNA'lar -20⁰C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.13.4. Primer Tasarımı

Polimeraz zincir reaksiyonu ve gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu analizlerinde kullanılmak üzere transkriptom verilerinden seçilen *Hsp* genlerine özel primerler tasarlanmıştır. Her *Hsp* geni ailesi için primerler tasarlanmıştır. İnternal kontrol olarak ise α -Tubulin (GenBank ID: XM_004149597) geni (Wu, 2016) kullanılmıştır. Tasarlanan primerler aşağıdaki Tablo 3.4.'de verilmiştir.

Tablo 3.4. *Tasarlanan primerler ve özellikleri*

Hsp Ailesi	Primer Adı	Primer Yönü	Primer Dizisi (5'→3')	Primer Uzunluğu (bp)	GC Oranı (%)	Optimize Edilen Bağlanma Sıcaklığı
sHsp	ClasHsp-23	İleri	CTTCCTCTGCCCCTGAAACC	20	60	57°C
		Geri	GAACCTCCCACTGCTTCGTTC	21	52	
Hsp40	ClaHsp40-15	İleri	CGACAACACCTCCCATCCAT	20	55	55°C
		Geri	CGCCCGTTGTTCACTTTCTG	20	55	
Hsp60	ClaHsp60-15	İleri	CGTAGACACCATTGCCGACT	20	55	57°C
		Geri	GGACAAACTTGCCGCTGATG	20	55	
Hsp70	ClaHsp70-07	İleri	G TTCAGGCTGGTGT TTTTGGC	20	55	57°C
		Geri	A ACTCTCGTTTCGCCTTGACA	20	50	
Hsp90	ClaHsp90-04	İleri	ATTGCACGATCTGGGACCAA	20	50	55°C
		Geri	CCCTGGTGACTGTGAACGAA	20	55	
Hsp100	ClaHsp100-67	İleri	TTGGTGT TGGTTCTGCTCGT	20	50	55°C
		Geri	ATTCCCTGACGCCTAGTTGC	20	55	

3.2.13.5. Agaroz jel elektroforezi

%1'lik agaroz jel hazırlanarak elektroforez yapılmış ve DNase sonrası, cDNA sonrası örneklerin ve primerlerin kontrolü yapılmıştır.

Agaroz jel hazırlamak için;

1 gr agaroz hassas tartılarak erlen içine alınmıştır. Üzerine 100 ml 1X TAE tampon eklenerek mikrodalga fırında yaklaşık 1 dk. tamamen çözünmesi sağlanmıştır. Ardından biraz soğutulurak 5 µl Redsafe (Nucleic Acid Staining Solution) jel boyası eklenmiştir. Hafifçe çalkalanarak boyanın homojen bir şekilde dağılması sağlanmıştır. Daha sonra dikkatlice elektroforez tankına dökülmüş ve tarakları

yerleştirilmiştir. Yükleme yapmak için jelin donması beklenmiştir. Jel tamamen donduktan sonra taraklar çıkarılarak yükleme yapılmış ve elektroforez 100 voltta 40 dakika çalıştırılmıştır. Yükleme yaparken kuyucuklara, 4 µl yükleme boyası (Loading Dye) ile 6 µl örnek karıştırılarak toplam 10 µl yüklenmiştir. Marker ise, 1 µl marker, 1 µl yükleme boyası (Loading Dye), 4 µl su olacak şekilde yüklenmiştir. Yürüme tamamlandıktan sonra UV Table Manuel (France) ile bakılmış sonra jel görüntüleme sistemi ile görüntülenmiştir.

3.2.13.6. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) analizleri

cDNA sentezi sonrasında elde edilen cDNA örneklerinin çalışıp çalışmadığını kontrol etmek amacıyla optimizasyon çalışması yapılmıştır. Polimeraz zincir reaksiyonu için hazırlanan reaksiyon karışımı Tablo 3.5.'te verilmiştir. Ayrıca tasarlanan primerler için uygun çalışma sıcaklığının bulunması için de optimizasyon yapılmıştır. Genlerin bağlanma sıcaklığı için uygulanan koşullar Tablo 3.6.'da gösterilmiştir.

Tablo 3.5. PZR için gerekli bileşenler

Bileşenler	1X
10X Taq Tampon	2 µl
dNTP karışımı	2 µl
25 mM MgCl ₂	3 µl
F (ileri primer)	1 µl
R (geri primer)	1 µl
Taq DNA polimeraz	0,5 µl
cDNA	4 µl
dH ₂ O	6,5 µl

Tablo 3.6. *Polimeraz zincir reaksiyonunun çalışması için gerekli şartlar*

Isıtılan kapak	İlk denatürasyon	Denatürasyon	Primer bağlanma	DNA sentezi	Son uzama
105 °C	95 °C 5dk	95°C 1 dk	55-58 °C 1 dk	72°C 1 dk	72°C 7 dk
		35 döngü			

3.2.13.7. Gerçek zamanlı PZR analizleri

cDNA sentezlendikten sonra karpuz bitkisine ait cDNA örnekleri, gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılmıştır. Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu için Qiagen Rotor Gene 6000 "Real-Time" PZR cihazı kullanılmıştır. Reaksiyon için sıcaklığı optimize edilmiş primerler ve SYBR Green supermix (2x) (Almanya) kullanılmıştır. cDNA örneklerinden ise 3 biyolojik, 3 teknik olmak üzere 6 tekrar kullanılmıştır. Hazırlanan reaksiyon karışımı aşağıdaki Tablo 3.7’de verilmiştir.

Tablo 3.7. *Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu için gerekli bileşenler*

Bileşenler	Miktar
SYBR Green Supermix	10 µl
F (ileri primer)	1 µl
R (geri primer)	1 µl
cDNA	2 µl
dH ₂ O	6 µl

Her örnek için 6 tekrar hazırlandıktan sonra her tüp mikro-santrifüjde kısa döndürülerek karışımın tüpün dibine toplanması sağlanmış ve tüpler cihaza dikkatlice yerleştirilmiştir. Ardından primerler için optimizasyon yapılmış, sıcaklık değeri ve döngü için gerekli olan ayarlar yapıldıktan sonra (Tablo 3.8.’de gösterildiği üzere) cihaz çalıştırılmıştır.

Tablo 3.8. Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonunun çalışma koşulları

PZR basamakları		Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
İlk denatürasyon		95 °C	5 dk	1
Amplifikasyon	Denatürasyon	95 °C	5 sn	1
	Bağlanma ve uzama	60 °C	40 sn	5
Erime eğrisi (Melting Curve)		50-95 °C	5 sn	1

Çoğalan cDNA'ler, cihazın 530 nm'de verdiği ışımanın ölçülmesiyle analiz yapılmıştır. Ek olarak erime eğrisi analizi de yapılmıştır. Erime eğrisi analizi için cDNA örnekleri, 95 °C'de denatüre edilip 65 °C'de bekletilmiştir. Floresan sinyalleri, 530 nm'de 65°C'den 95°C'ye kadar her bir 0,5°C'de her saniyede alınarak toplanmıştır.

Sonuç olarak her gen için örneklerimize ait pikler elde edilmiştir. Pikler göz önüne alınarak Ct (Cycle Threshold) değerleri elde edilmiştir. Gerçek zamanlı PZR analizinde normalizasyon için çeşitli koşullarda ekspresyonunun değişmediği bilinen ya da en az etkilenen bir referans gen kullanılmaktadır. Çalışmada referans gen olarak TUA kullanılmıştır. Bu verilerden yola çıkarak ΔCT ($\Delta CT = CT_{\text{örnek}} - CT_{\text{referans}}$) ve $\Delta\Delta CT$ ($\Delta\Delta CT = \Delta CT_{\text{stres verilen örnek}} - \Delta CT_{\text{kontrol}}$) (Çelik Altunoglu vd., 2017), gen ifadesi seviyesindeki farklılık $2^{\Delta\Delta CT}$ değerleri hesaplanarak ekspresyon profillerine ait grafikler çizilmiştir (Livak ve Schmittgen, 2001).

3.2.14. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel hesaplamalar ve karşılaştırmalar, Minitab 18 paket programı kullanılarak yapılmıştır. Stres verilen örnekler ile kontrol örnekleri arasındaki fark “*” P değeri <0.1; “**” P değeri <0.05; “***” P değeri <0.01 şeklinde gösterilmiştir. Sonuçların istatistik analizi için TekYönlü-ANOVA testi kullanılarak, P değeri < 0,01 ise farklılığın anlamlı olduğu kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. *ClaHsp* Genlerinin Biyoinformatik Analizleri

4.1.1. Karpuz Bitkisinde Isı Şoku Genlerinin Dizilerinin Belirlenmesi, Adlandırılması ve Karakterizasyonu

Bütün bitkilerdeki Hsp dizileri elde edilip aralarından karpuz bitkisine ait olanlar belirlenmiştir. Yapılan bu analizler sonucunda karpuz bitkisindeki her Hsp sınıfına ait diziler elde edilmiş ve karpuzun latince adının (*Citrullus lanatus*) baş harfleri ile ısı şoku proteinlerinin kısaltmasıyla, ClaHsp şeklinde adlandırılmaları yapılmıştır.

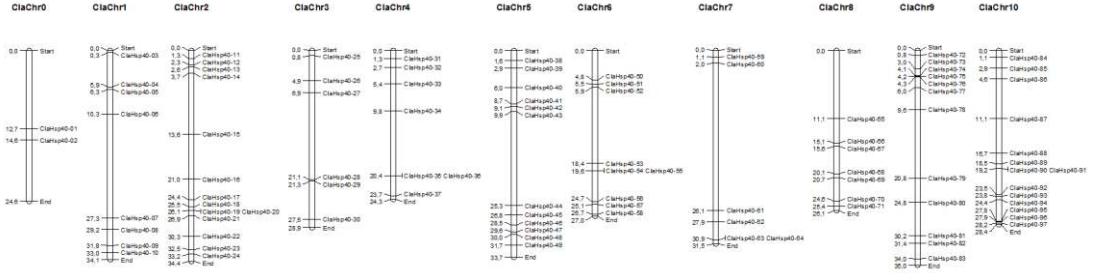
Bu verilere göre; sHsp'ye ait 39 gen bulunmuş ve ClaHsp-01'den ClaHsp-39'a kadar adlandırılmış, Hsp40'a ait 101 gen bulunmuş ve ClaHsp40-01'den ClaHsp40-101'e kadar adlandırılmış, Hsp60'a ait 23 gen bulunmuş ve ClaHsp60-01'den ClaHsp60-23'e kadar adlandırılmış, Hsp70'e ait 12 gen bulunmuş, ve ClaHsp70-01'den ClaHsp70-12'ye kadar adlandırılmış, Hsp90'a ait 6 gen bulunmuş ve ClaHsp90-01'den ClaHsp90-06'ya kadar adlandırılmış, Hsp100'e ait 102 gen bulunmuş ve ClaHsp100-01'den ClaHsp100-102'ye kadar adlandırılmıştır.

Bulunan genlerin karakterizasyonu yapılırken, protein uzunluğu, izoelektronik etki değeri (pI), moleküler ağırlıkları gibi özellikleri belirlenmiştir. Buna göre:

sHsp'nin protein uzunluklarının 97 ile 509 aa arasında değiştiği, çoğunun asidik özellikte olduğu, 33 genin kararsız ve 6 tanesinin kararlı olduğu görülmüştür.

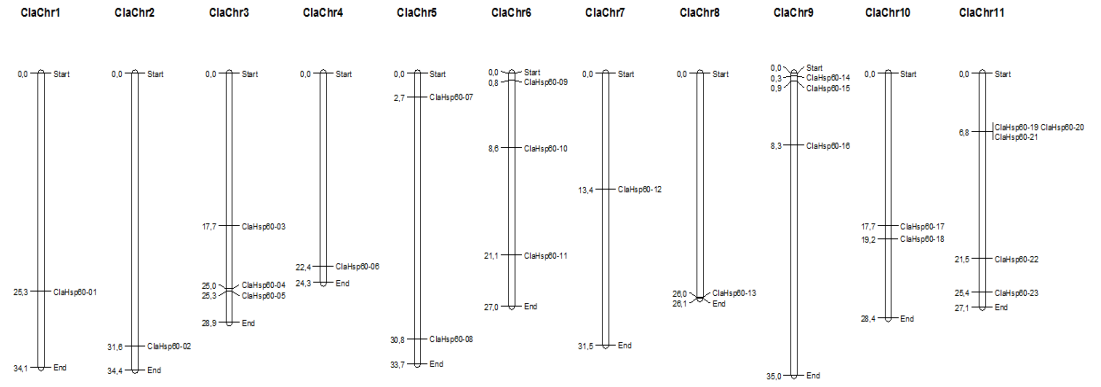
Hsp40'ın protein uzunluğunun 60 ile 2548 aa arasında değiştiği, genlerden 62 tanesinin bazik, 39 tanesinin asidik olduğu, çoğunun kararsız yapıda olduğu görülmüştür.

Hsp60'ın protein uzunluğu 57 ile 1741 aa uzunluğunda olduğu, 17 tanesinin asidik, 6 tanesinin bazik olduğu ve çoğunluğunun kararlı yapıda olduğu görülmüştür.



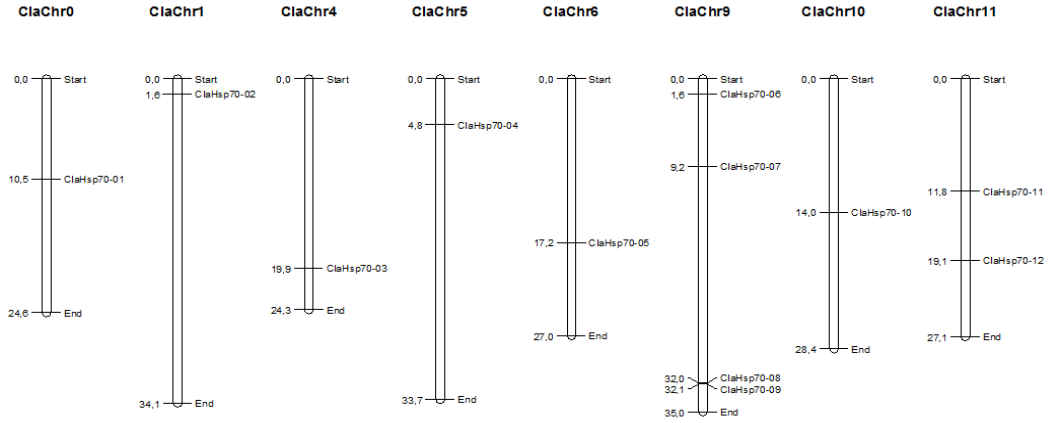
Şekil 4.2. *ClaHsp40* genlerinin karpuz kromozomu üzerindeki yerleşimi

Hsp60 ailesine ait *ClaHsp60* genlerinin kromozomlar üzerindeki yerleşimleri incelendiğinde, *Hsp60* genlerinden 5 tanesi 11. kromozoma yerleşmiştir. 3., 6. ve 9. kromozomlara 3 *ClaHsp60* geni, 5. ve 10. kromozomlara 2 *ClaHsp60* geni ve diğer kromozomlara birer tane *ClaHsp60* geni yerleşmiştir (Şekil 4.3).



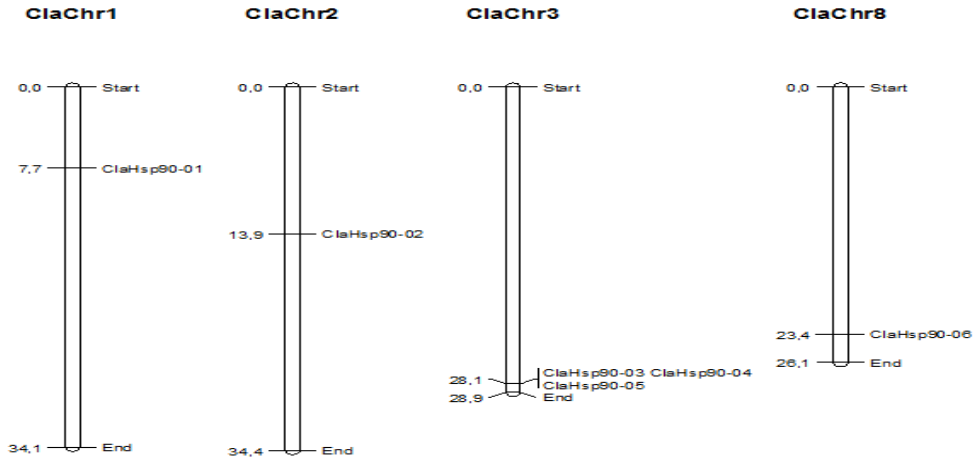
Şekil 4.3. *ClaHsp60* genlerinin karpuz kromozomu üzerindeki yerleşimi

ClaHsp70 genleri 1., 4., 5., 6., 9., 10. ve 11. kromozomlar üzerinde bulunmaktadır. Bu kromozomlar üzerindeki dağılımına bakıldığında ise, *ClaHsp70-02* geni 1. kromozom üzerinde, *ClaHsp70-03* geni 4. kromozom üzerinde, *ClaHsp70-04* geni 5. kromozom üzerinde, *ClaHsp70-05* geni 6. kromozom üzerinde, *ClaHsp70-06*, *ClaHsp70-07*, *ClaHsp70-08* ve *ClaHsp70-09* genleri 9. kromozom üzerinde, *ClaHsp70-10* geni 10. kromozom üzerinde ve *ClaHsp70-11* ile *ClaHsp70-12* geni ise 11. kromozom üzerinde bulunmaktadır (Şekil 4.4).



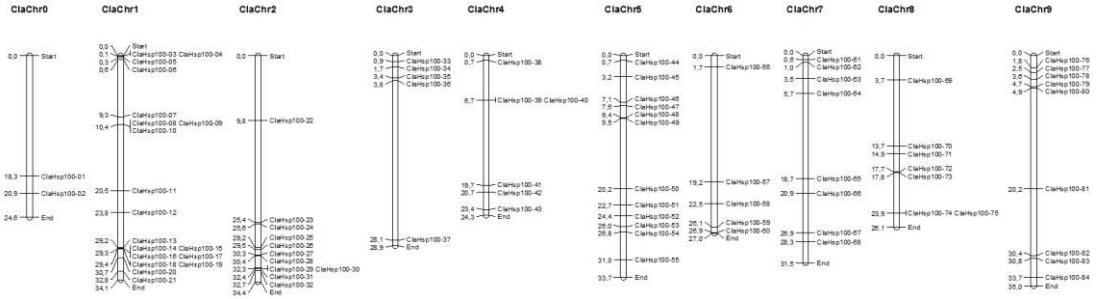
Şekil 4.4. *ClaHsp70* genlerinin karpuz kromozomu üzerindeki yerleşimi

ClaHsp90 genlerinin 1., 2., 3. ve 8. kromozomlar üzerine yerleşmiş olduğu görülmektedir. Bunlardan *ClaHsp90-01* geni 1. kromozom üzerinde, *ClaHsp90-02* geni 2. kromozom üzerinde, *ClaHsp90-03*, *ClaHsp90-04* ve *ClaHsp90-05* genleri 3. kromozom üzerinde, *ClaHsp90-06* geni ise 8. kromozom üzerinde yer almaktadır (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. *ClaHSP90* genlerinin karpuz kromozomu üzerindeki yerleşimi

ClaHsp100 genlerinin ise çoğunluğu (19 *ClaHsp100* geni) 1. kromozom üzerinde yer almaktadır. Ardından 12 *ClaHsp100* geni 5. kromozom üzerinde, 11 *ClaHsp100* geni 2. kromozom üzerinde, 10 *ClaHsp100* geni 11. kromozom üzerinde, 9 *ClaHsp100* 9. kromozom üzerinde, sekizer *ClaHsp100* geni 7. ve 10. kromozom üzerinde, 7 *ClaHsp100* geni 8. kromozom üzerinde, 6 *ClaHsp100* geni 4. kromozom üzerinde ve beşer *ClaHsp100* geni 3. ve 6. kromozomlar üzerinde yer almaktadır (Şekil 4.6).

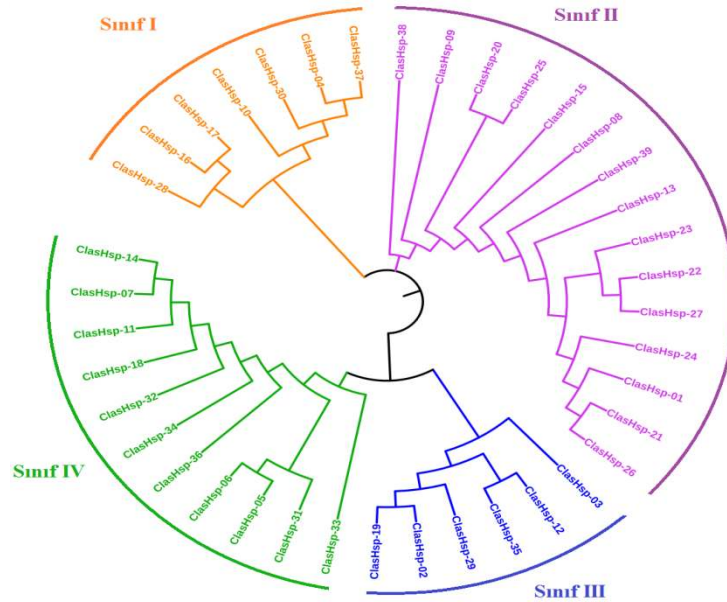


Şekil 4.6. *ClaHsp100* genlerinin karpuz kromozomu üzerindeki yerleşimi

4.2. Karpuz Isı şoku Genlerinin Filogenetik Analizleri

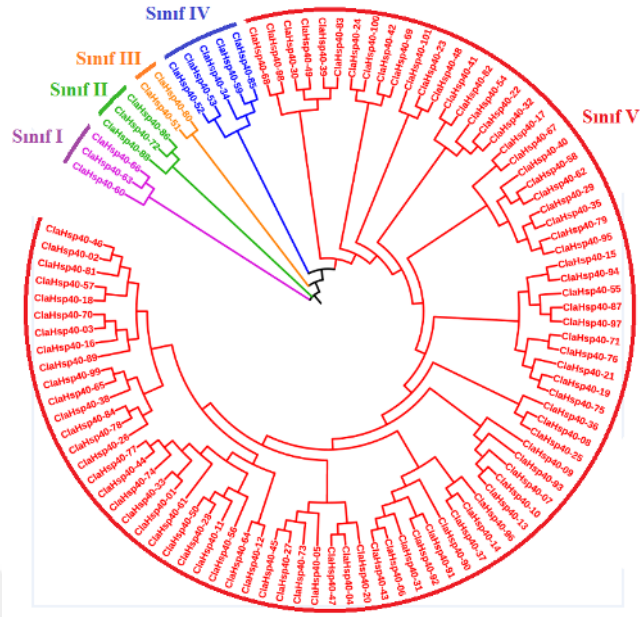
4.2.1. Karpuz Isı Şoku Genlerinin Filogenetik Ağaç Analizi

Maximum Likelihood yöntemi ile çizilen filogenetik ağaçlar incelendiğinde; sHsp proteinlerinin 4 ana kola ayrıldığı görülmüştür. Bunlar I'den IV'e kadar sınıflandırılmıştır. Sınıf I'de 7 protein, Sınıf II'de 15 protein, Sınıf III'de 6 protein ve Sınıf IV'de 11 protein bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.7).



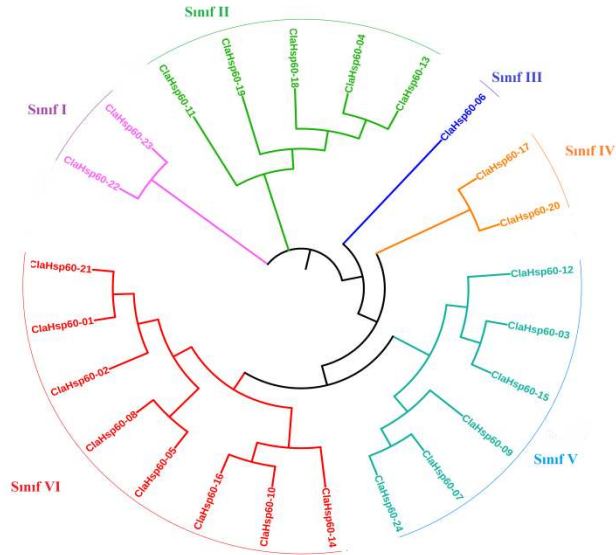
Şekil 4.7. ClasHsp proteinlerine ait filogenetik ağaç

Hsp40'ın ise filogenetik ağaçta 5 ana kola ayrıldığı belirlenmiştir. Bu kollar sınıflandırıldığında; Sınıf I'de 3 protein, Sınıf II'de 3 protein, Sınıf III'de 2 protein, Sınıf IV'de 5 protein ve Sınıf V'de 88 protein bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.8).



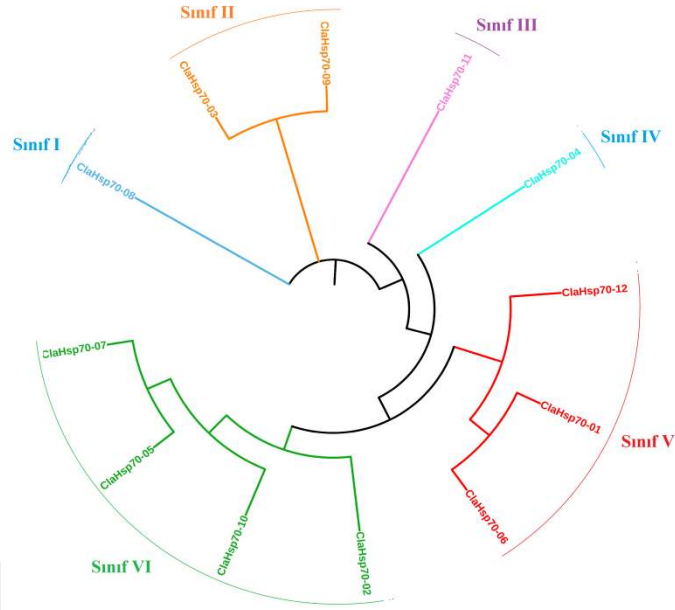
Şekil 4.8. ClaHsp40 proteinlerine ait filogenetik ağaç

Hsp60 proteinlerinin filogenetik ağacının 6 ana kola ayrıldığı görülmüştür. Sınıf I’de 2 protein, Sınıf II’de 5 protein, Sınıf III’de 1 protein, Sınıf IV’de 2 protein, Sınıf V’de 6 protein ve Sınıf 6’da 8 protein bulunduğu belirlenmiştir (Şekil 4.9).



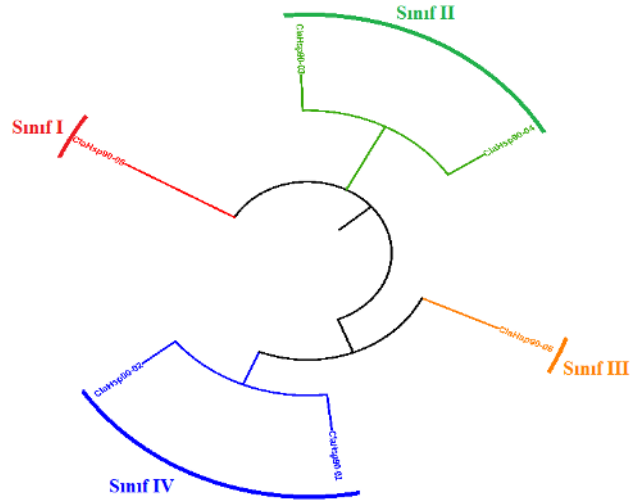
Şekil 4.9. ClaHsp60 proteinlerine ait filogenetik ağaç

Hsp70’in filogenetik analizine göre de 6 ana kol oluşmuştur. Sınıf I’de 1 protein, Sınıf II’de 2 protein, Sınıf III’de 1 protein, sınıf IV’de 1 protein, Sınıf V’de 3 protein ve Sınıf 6’da 4 protein bulunduğu belirlenmiştir (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. ClaHsp70 proteinlerine ait filogenetik ağaç

Hsp90'nın filogenetik analizine göre de 4 ana kol oluşmuştur. Sınıf I'de 1 protein, Sınıf II'de 2 protein, Sınıf III'de 1 protein, sınıf IV'de 2 protein bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. ClaHsp90 proteinlerine ait filogenetik ağaç

Hsp100'ün filogenetik analizine göre de 6 ana kol oluşmuştur. Sınıf I'de 4 protein, Sınıf II'de 5 protein, Sınıf III'de 7 protein, sınıf IV'de 12 protein, Sınıf V'de 36 protein ve Sınıf 6'da 38 protein bulunduğu belirlenmiştir (Şekil 4.12).

Hsp60'ın motif yapısı incelendiğinde baskın olarak 1 tane motif kalıbı görülmüştür. Bu da filogenetik ağaçla benzerlik göstermektedir.

Hsp70 proteinlerinin motif yapısı incelendiğinde, motiflerin, filogenetik ağaçla benzerlik gösterdiği görülmektedir.

Hsp90 için motifler incelendiğinde, baskın olarak 2 motif kalıbı görülmektedir. Bu kalıba sahip proteinlerin filogenetik ağaçta aynı kol üzerinde yer aldığı görülmüştür.

Hsp100 proteinlerinin motif yapısı incelendiğinde, 6 baskın motif kalıbına sahip olduğu görülmektedir. Aynı motif kalıbına sahip Hsp100 proteinleri aynı filogenetik sınıflarda yer almaktadır.

Hsp ailelerine ait motif kombinasyonları EK-9, EK-10, EK-11, EK-12, EK-13 ve EK-14'de verilmiştir.

Hsp ailelerinin ekzon-intron bölgelerine bakıldığında ise; sHsp'de ekzon ve intron bölgeleri yaklaşık olarak eşittir ve motif yapısı ve filogenetik ağaçla benzer bir yapı göstermektedir. Örneğin; aynı ekzon-intron yapısına sahip ClasHsp-16 ve ClasHsp-17, filogenetik ağaç üzerinde aynı kolda yer almaktadırlar ve aynı motif kalıbına sahiptirler.

Hsp40 proteinlerinde de ekzon ve intron bölgelerinin yaklaşık olarak eşit olduğu görülmüştür. Filogenetik ağaç ile benzerlik gösteren HSP40 ekzon-intron bölgeleri, motif kalıpları ile de uyushmaktadır.

Hsp60 proteinlerinin ekzon-intron bölgelerine bakıldığında tamamen ekzon bölgeden oluştuğu ve hiç intron bölgesi içermediği gözlenmiştir.

Hsp70 için ekzon-intron bölgeler incelendiğinde yaklaşık olarak eşit olduğu gözlenmiştir.

Hsp90 proteinlerinin ekzon-intron yapısına bakıldığında ise hiç intron bölge içermediği, tamamen ekzondan oluştuğu görülmüştür.

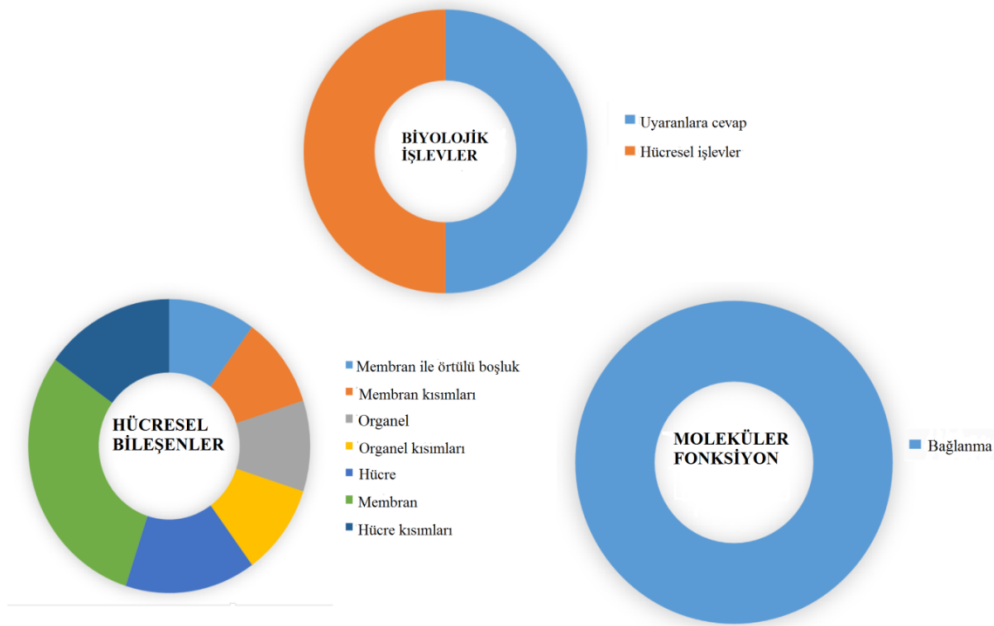
Hsp100 genlerinin çok az intron bölgeye sahip olduğu, çoğunlukla ekzondan oluştuğu görülmüştür.

Tüm Hsp aileleri için daha açık ekzon-intron yapısı EK’lerde verilmiştir.

4.2.3. Karpuz Isı Şoku Genlerinin Ontoloji Analizleri

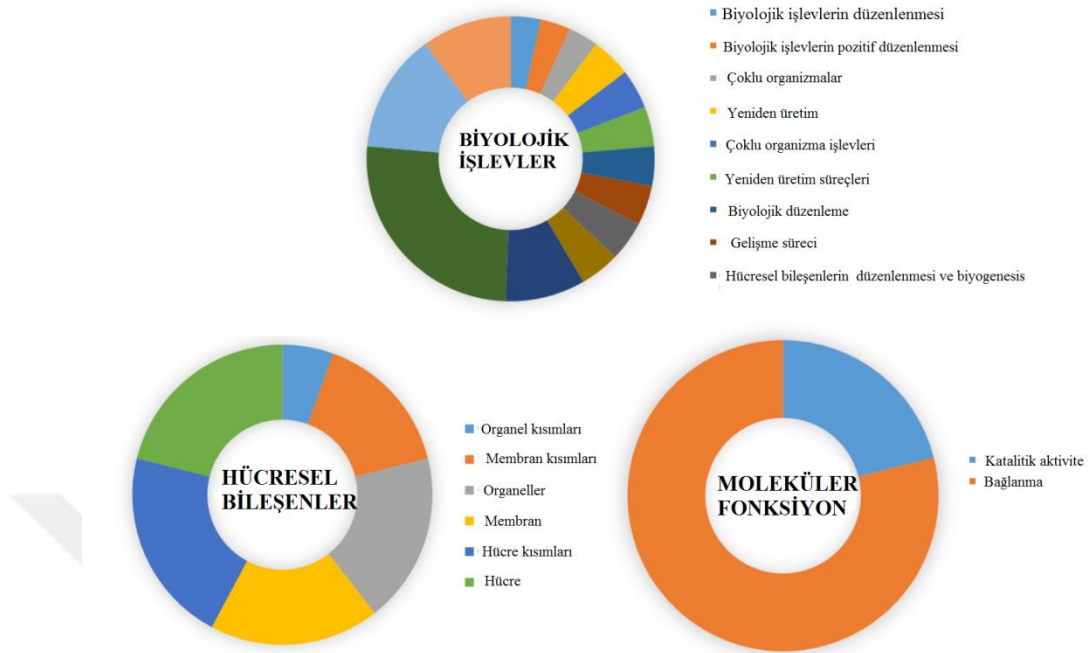
Karpuzun gen ontoloji analizleri incelendiğinde ise *Hsp* genlerinin biyolojik işlev, hücresel lokalizasyon ve moleküler fonksiyonu belirlenmiştir.

sHsp genlerinin analizleri incelendiğinde, biyolojik işlevinin uyarılara cevap ve hücresel işlevler olduğu görülmüştür. Moleküler fonksiyonun bağlanma olduğu ve hücresel lokalizasyonunun hücre, hücre kısımları, organel, organel kısımları, membran, membran kısımları ve membran ile ilişkili boşluklarda dağıldığı gözlenmektedir. *sHsp*’ye ait ontoloji grafiği Şekil 4.13.’de verilmiştir.



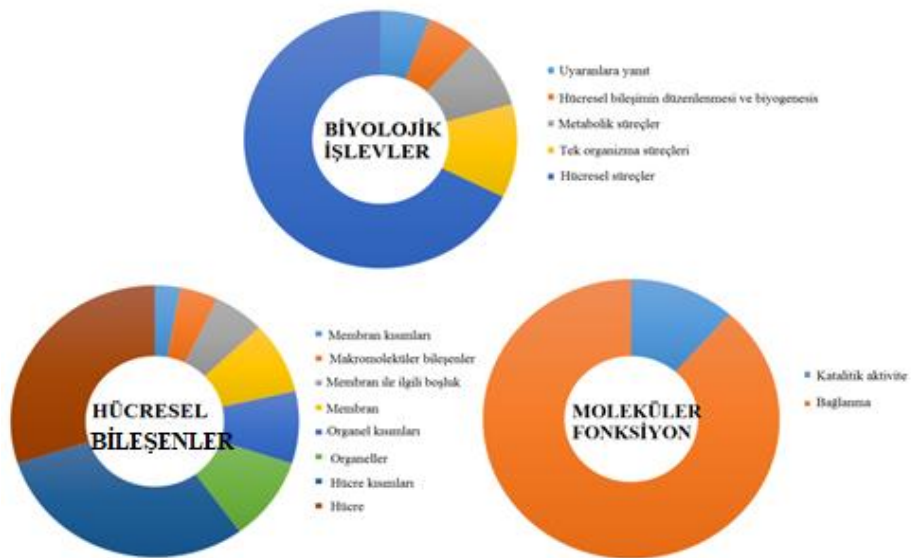
Şekil 4.13. *ClasHsp* genlerine ait fonksiyonel analizler

Hsp40’da biyolojik işlevlerin, biyolojik süreçlerin düzenlenmesi ve pozitif düzenlenmesi, çoklu organizma işlevleri, yeniden üretim, çok hücreli süreçler, biyolojik düzenleme, hücresel bileşim organizasyonu ve biyogenez gibi işlevler olduğu, moleküler fonksiyonunun ise bağlanma ve katalitik aktivite olduğu belirlenmiştir. Hücresel lokalizasyonun ise, organel kısımları, membran kısımları, organel membran ve hücre olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.14).



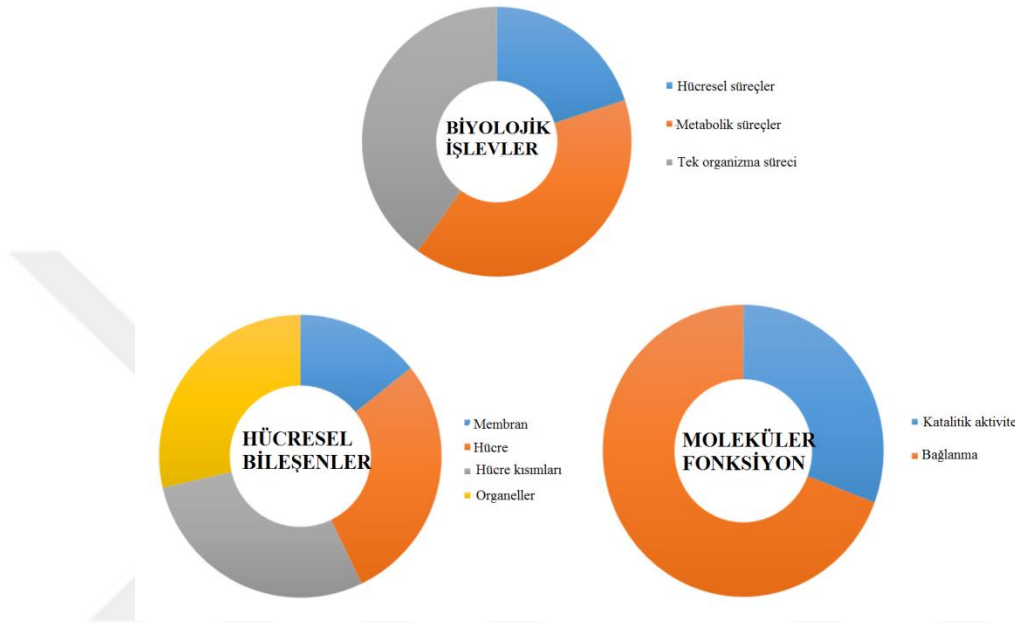
Şekil 4.14. *ClaHsp40* genlerine ait fonksiyonel analizler

Hsp60'ın ontoloji analizlerine bakıldığında, biyolojik işlevin çoğunlukla hücresel işlevler olduğu görülmüştür. Moleküler fonksiyonun çoğunlukla bağlanma olduğu ve katalitik aktivitede görev aldığı görülmüştür. Hücrede ise en fazla hücre ve hücre kısımlarında yer aldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.15).



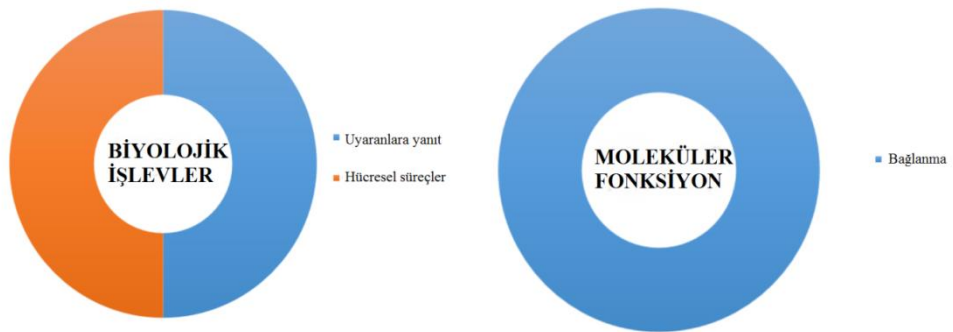
Şekil 4.15. *ClaHsp60* genlerine ait fonksiyonel analizler

Hsp70'te biyolojik işlevin hücresel işlevler, metabolik süreç ve tek organizma süreci olduğu belirlenmiştir. Moleküler olarak katalitik aktivite ve bağlanarak fonksiyon gördüğü belirlenmiştir. Hücrede ise membranda, hücrede, hücre kısımlarında ve organellerde yer aldığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.16. *ClaHsp70* genlerine ait fonksiyonel analizler

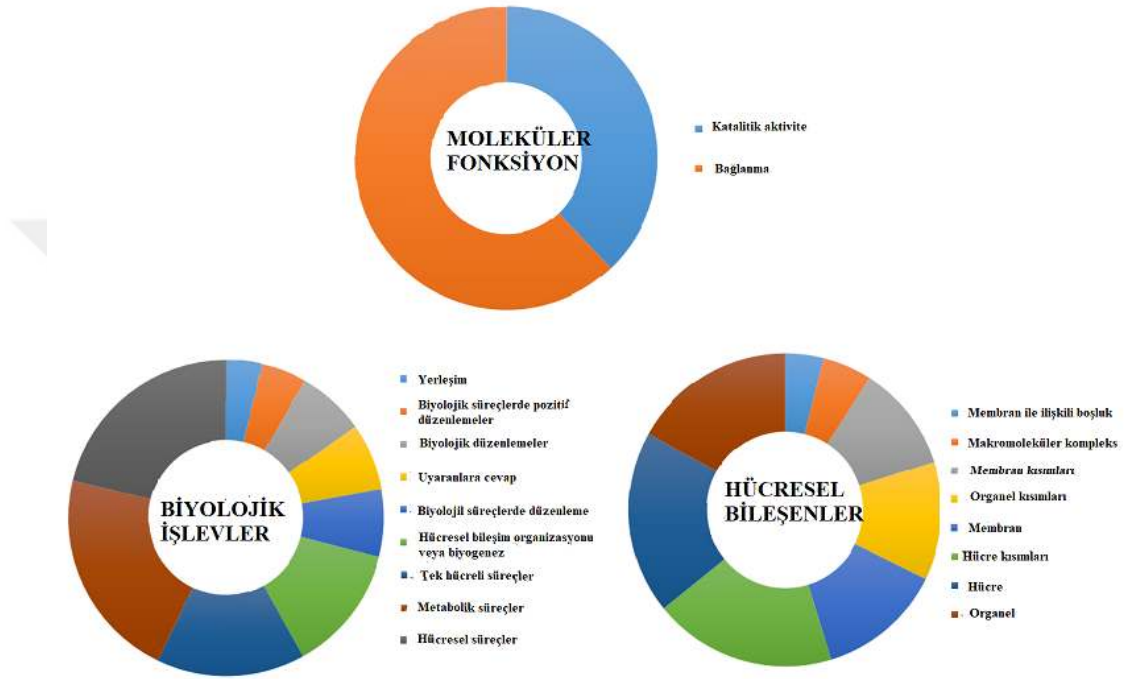
Hsp90'nın biyolojik işlevinin uyarılara cevap ve hücresel süreçler olarak iki işlevi olduğu belirlenmiştir. Moleküler fonksiyonunun bağlanma olduğu gözlenmiştir.



Şekil 4.17. *ClaHsp90* genlerine ait fonksiyonel analizler

Hsp100'de moleküler fonksiyonun ağırlıklı olarak bağlanma olmasıyla beraber

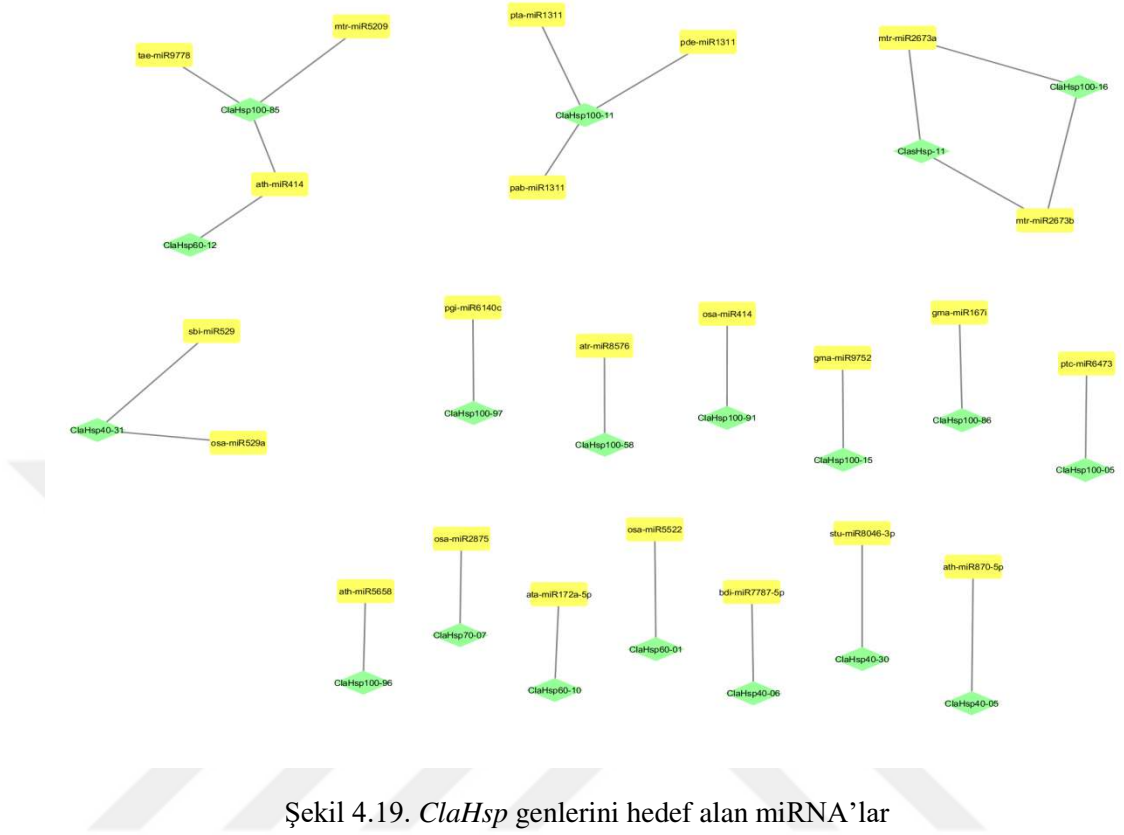
katalitik aktivite de gösterdiği gözlenmiştir. Biyolojik işlev olarak da çoğunlukla hücresel işlevler ve metabolik işlevler olmakla birlikte uyaranlara cevap, yerleşim, hücresel bileşim organizasyonu ve biyogenesis gibi birçok işlevi olduğu görülmüştür. Hücre içerisinde membranda, hücre kısımlarında, organellerde çoğunlukla yer aldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.18).



Şekil 4.18. *ClaHsp100* genlerine ait fonksiyonel analizler

4.3. Karpuzda Isı Şoku Genlerini Hedefleyen miRNA' ların Analizleri

psRNATarget veri tabanı ile yapılan miRNA analizleri sonucunda toplam 19 farklı karpuz *Hsp* geninin miRNA' lar tarafından hedeflendiği belirlenmiştir. Toplamda 23 farklı miRNA tarafından, *ClasHsp-11*, *ClaHsp40-05*, *ClaHsp40-06*, *ClaHsp40-30*, *ClaHsp40-31*, *ClaHsp60-01*, *ClaHsp60-10*, *ClaHsp60-12*, *ClaHsp70-07*, *ClaHsp100-05*, *ClaHsp100-11*, *ClaHsp100-15*, *ClaHsp100-16*, *ClaHsp100-58*, *ClaHSP100-85*, *ClaHsp100-86*, *ClaHsp100-91*, *ClaHsp100-96*, *ClaHsp100-97* genlerinin hedeflendiği görülmüştür (Şekil 4.19).

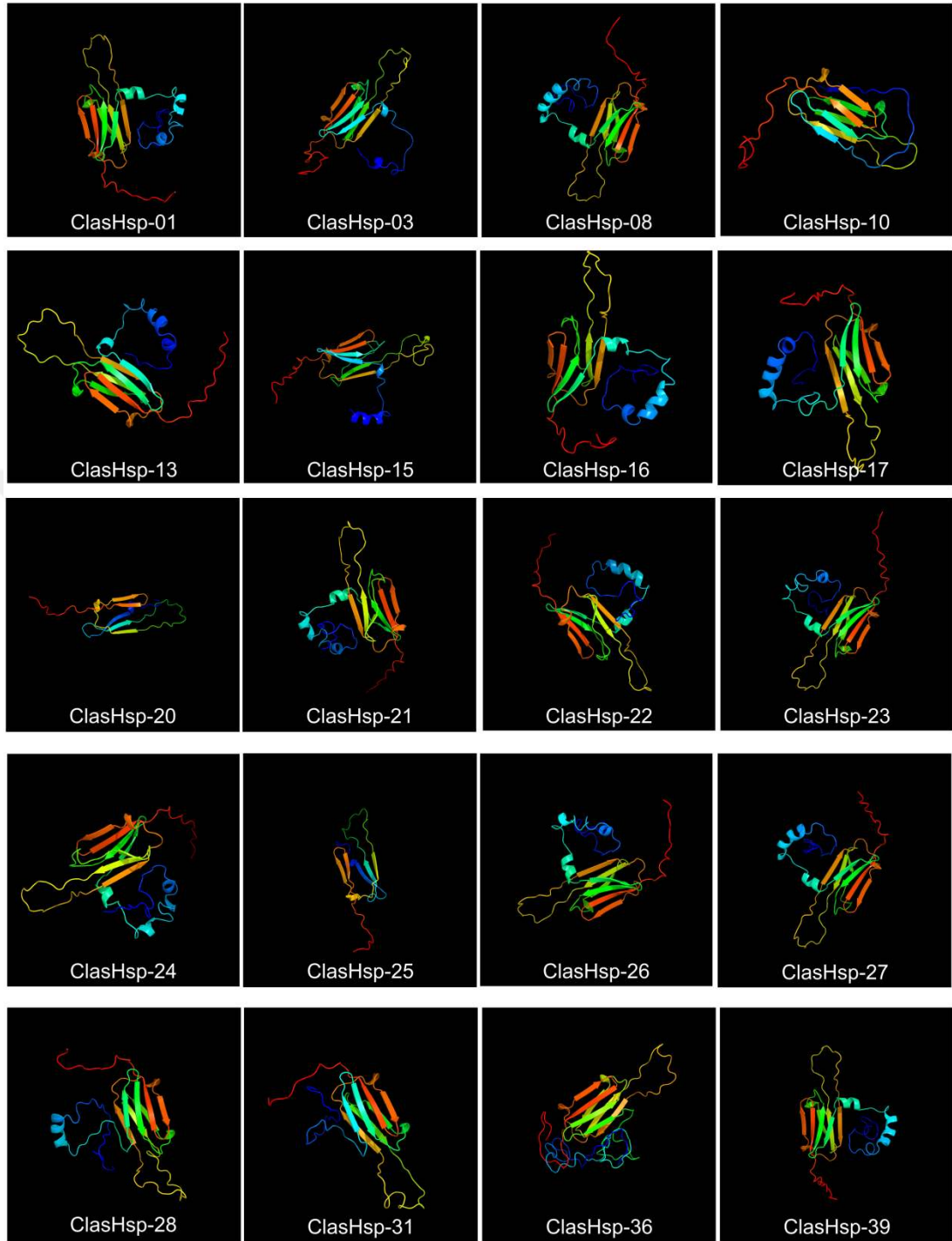


Şekil 4.19. *ClaHsp* genlerini hedef alan miRNA'lar

4.4. Isı Şoku Proteinlerinin Homoloji Modellemesi

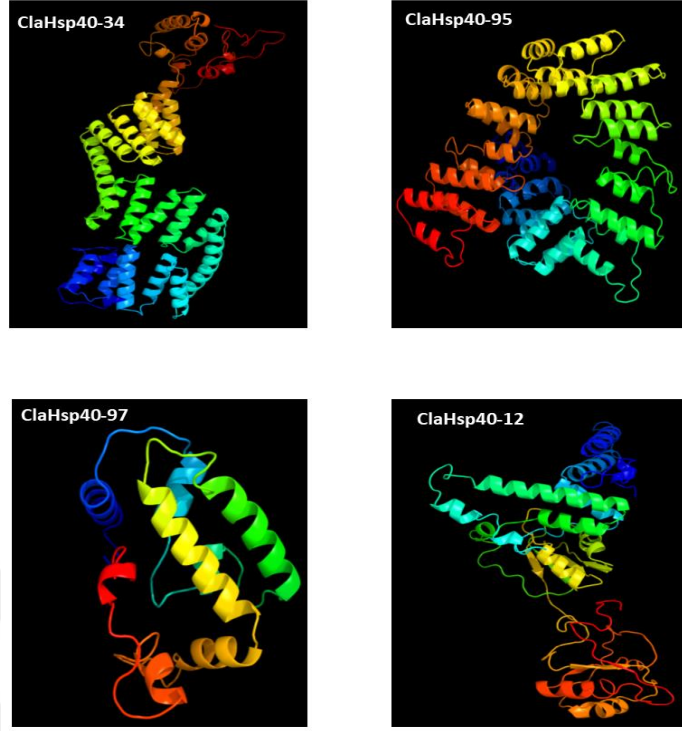
Protein Data Bank (PDB) kullanılarak yapılan homoloji modellemesi sonucunda proteinlerin yapıları hakkında bilgi edinilmeye çalışılmıştır.

sHsp'ye bakıldığında 20 tane ClasHsp proteini yüksek oranda benzerlik göstermiştir. Benzerlik oranı Phyre2 veri tabanından intensive modu seçilerek yapılmıştır. Güvenilirliği %90 ve benzerliği %70 ile %100 arasında belirlenmiştir. Bunların sonucunda yapılarda daha çok β -yaprak yapının hakim olduğu görülmüştür (Şekil 4.20).



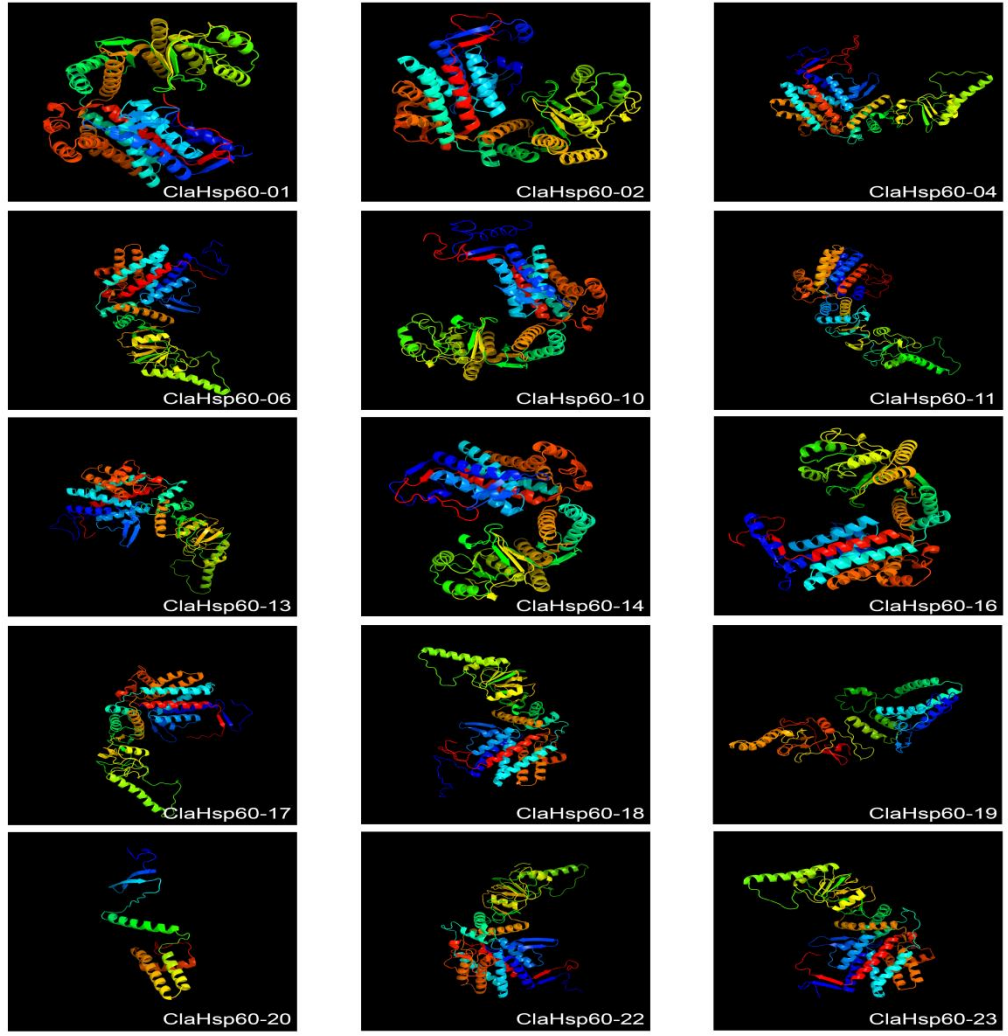
Şekil 4.20. *ClasHsp* genlerine ait proteinlerin tahmini üç boyutlu yapısı

Hsp40 ailesine bakıldığında, 4 tane proteinin yüksek oranda benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Bu 4 yapıda ise daha çok α -sarmal yapının hakim olduğu görülmüştür (Şekil 4.21).



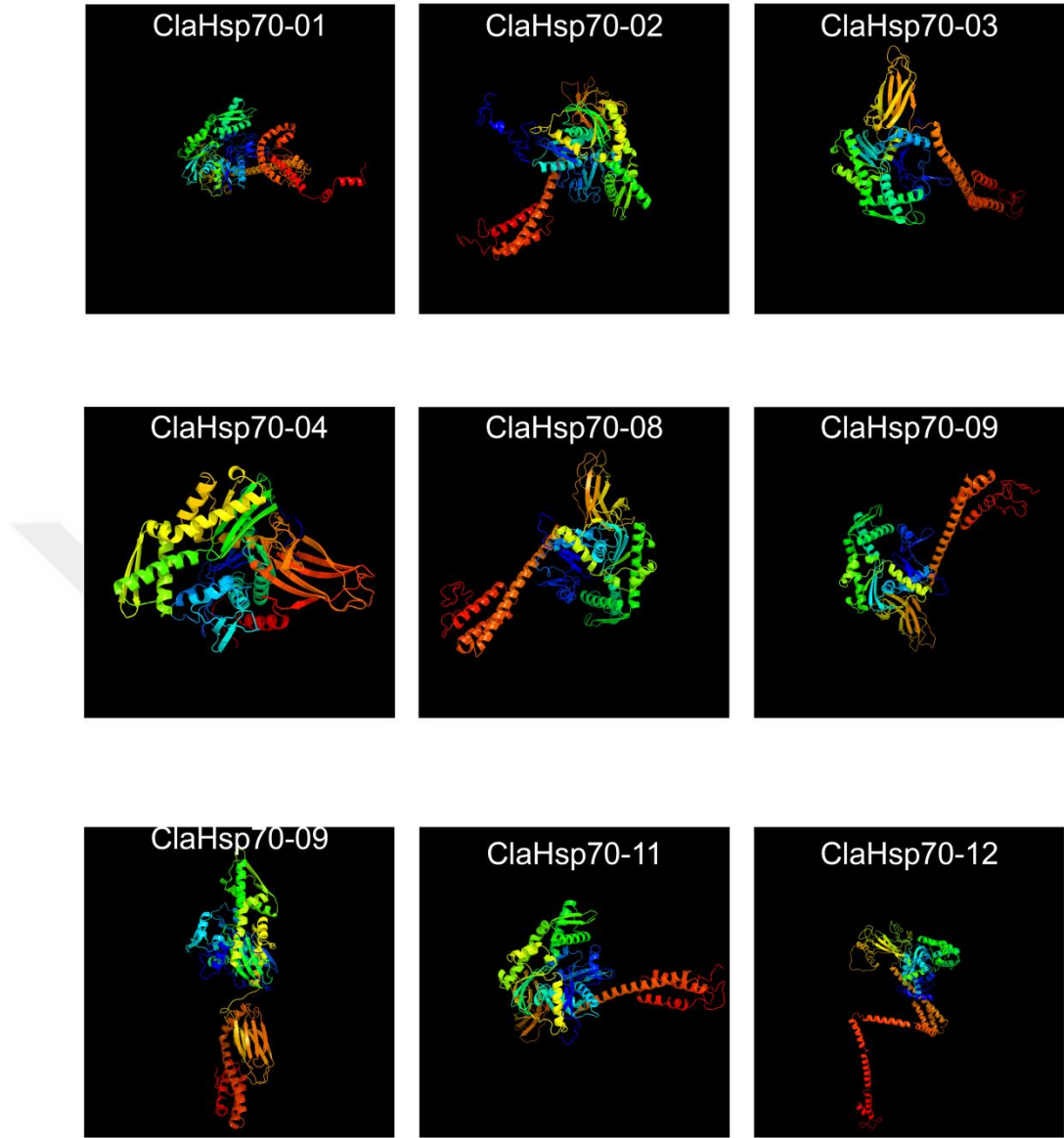
Şekil 4.21. *ClaHsp40* genlerine ait proteinlerin tahmini üç boyutlu yapısı

Hsp60 ailesi için bakıldığında, 15 tane proteinin yüksek oranda benzerlik gösterdiği ve bu 15 protein yapısında α -sarmal yapısının baskın olduğu görülmüştür (Şekil 4.22).



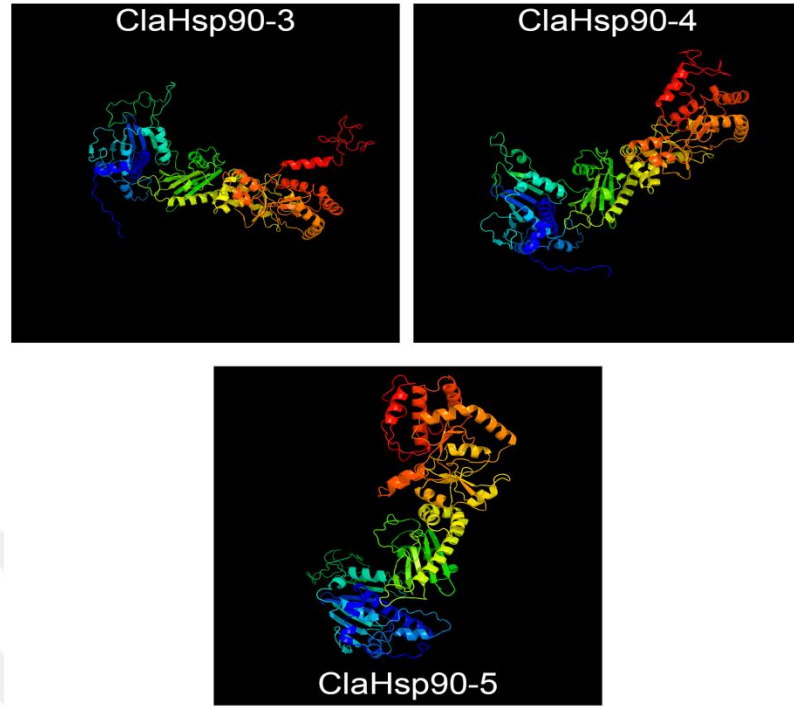
Şekil 4.22. ClaHsp60 genlerine ait proteinlerin tahmini üç boyutlu yapısı

Hsp70 ailesi incelendiğinde, 9 adet proteinin yüksek homolojiye sahip olduğu belirlenmiştir. Bu proteinlerde de α -sarmal yapının hakim olduğu görülmüştür (Şekil 4.23).



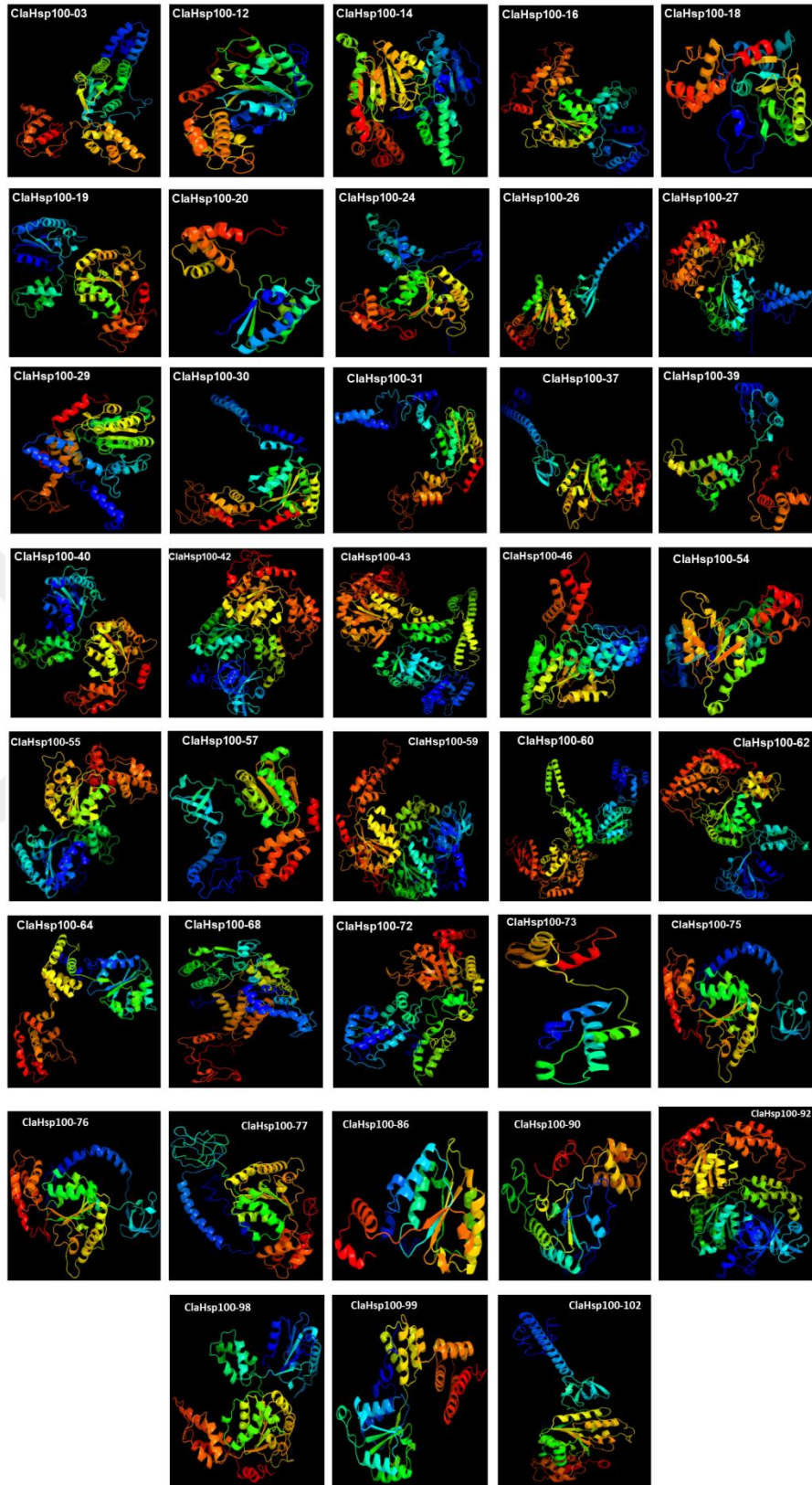
Şekil 4.23. ClaHsp70 genlerine ait proteinlerin tahmini üç boyutlu yapısı

Hsp90 ailesi için bakıldığında, 3 adet proteinin yüksek benzerliğe sahip olduğu belirlenmiştir ve α -sarmal yapının hakim olduğu görülmüştür (Şekil 4.24).



Şekil 4.24. *ClaHsp90* genlerine ait proteinlerin tahmini üç boyutlu yapısı

Hsp100 ailesine bakıldığında 38 adet proteinin yüksek benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Bu 38 adet proteinde de α -sarmal sarmal yapının, β -yaprak yapısına göre daha hakim olduğu görülmüştür (Şekil 4.25).



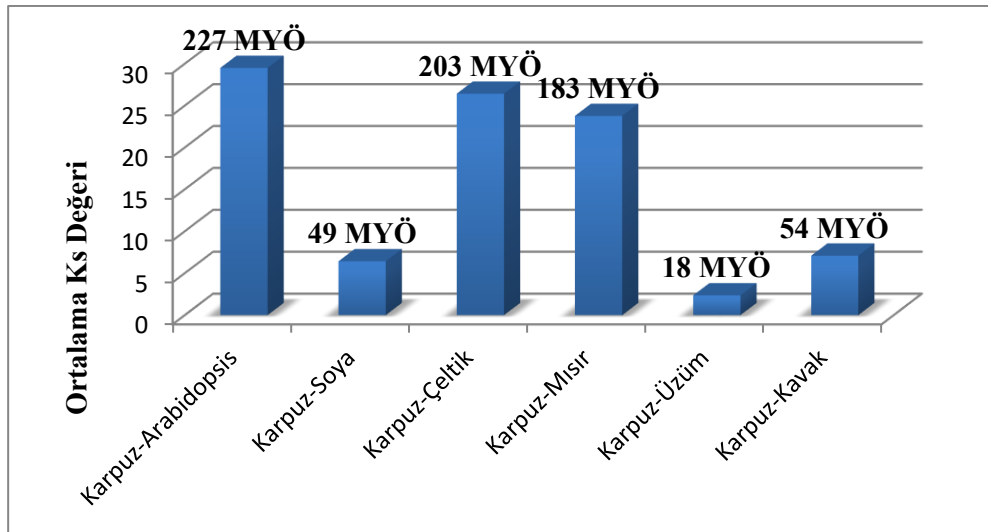
Şekil 4.25. *ClaHsp100* genlerine ait proteinlerin tahmini üç boyutlu yapısı

4.5. Karpuz Isı Şoku Genlerinin Farklı Organizmalar ile Ortologlarının ve Ayrılma Zamanlarının Belirlenmesi

Farklı organizmalarda yapı bakımından farklılık göstermesine rağmen fonksiyonel açıdan benzer olan genler ortolog genler olarak isimlendirilirler.

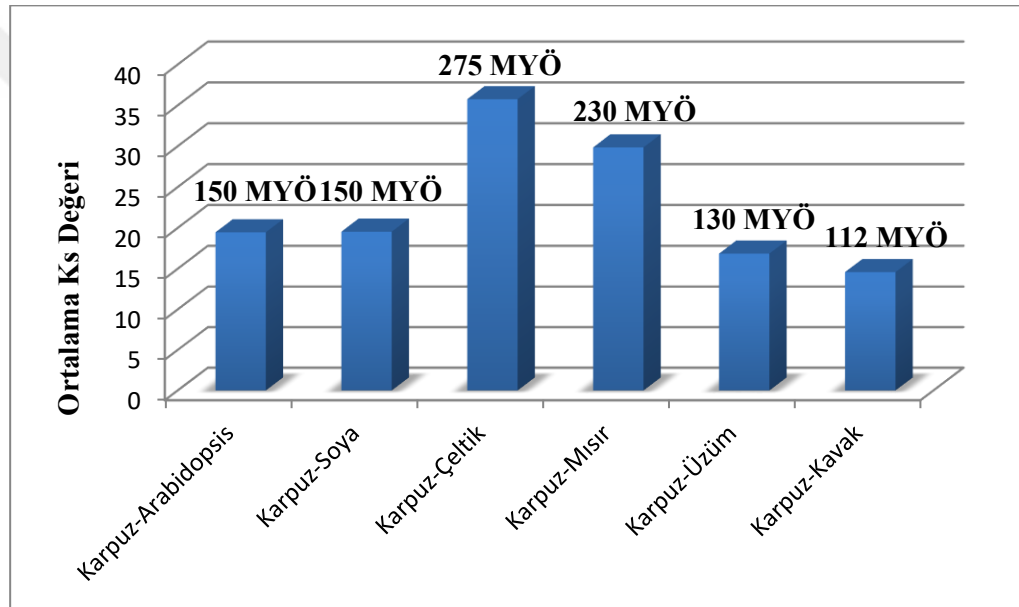
Karpuz genomunda elde edilen *Hsp* gen ailelerine ait diziler, farklı organizmaların (*Arabidopsis thaliana*, *Oryza sativa*, *Glycine max*, *Populus trichocarpa*, *Vitis vinifera* ve *Zea mays*) dizileri ile karşılaştırılmış ve ortolog analizi yapılmıştır. Bunun sonucunda ortolog gen çiftleri, benzer ve benzer olmayan değişim oranları, evrimsel süreçte muhtemel ayrılma zamanları belirlenmiştir. Elde edilen veriler sonucunda *ClasHsp* gen ailesi incelendiğinde (Şekil 4.26) en fazla ortolog ilişkisinin soya (47 çift) ile olduğu görülmüştür. Ardından kavak (35 çift) ile ortolog ilişkiye sahip olduğu görülmüştür. En az ortolog ilişki ise 5 çift ile üzüm ve 6 çift ile mısırdan gözlenmiştir. 6 organizma arasında karpuz ile benzerlik oranı fazla olan organizmaların soya (0,05), üzüm (0,05) ve kavak (0,05) olduğu görülmüştür. Ardından 0,03 benzerlik oranı ile *Arabidopsis* ve çeltiğin benzerlik gösterdiği görülmüştür. 0,02 benzerlik oranı ile en az benzerliğe sahip organizma ise mısır olarak belirlenmiştir.

Muhtemel ayrılma zamanlarına bakıldığında ise karpuz ile ilk ayrılma 227 MYÖ ile *Arabidopsis* arasında olduğu belirlenmiştir. 18 MYÖ ile en son ayrılan organizmanın ise üzüm olduğu belirlenmiştir.



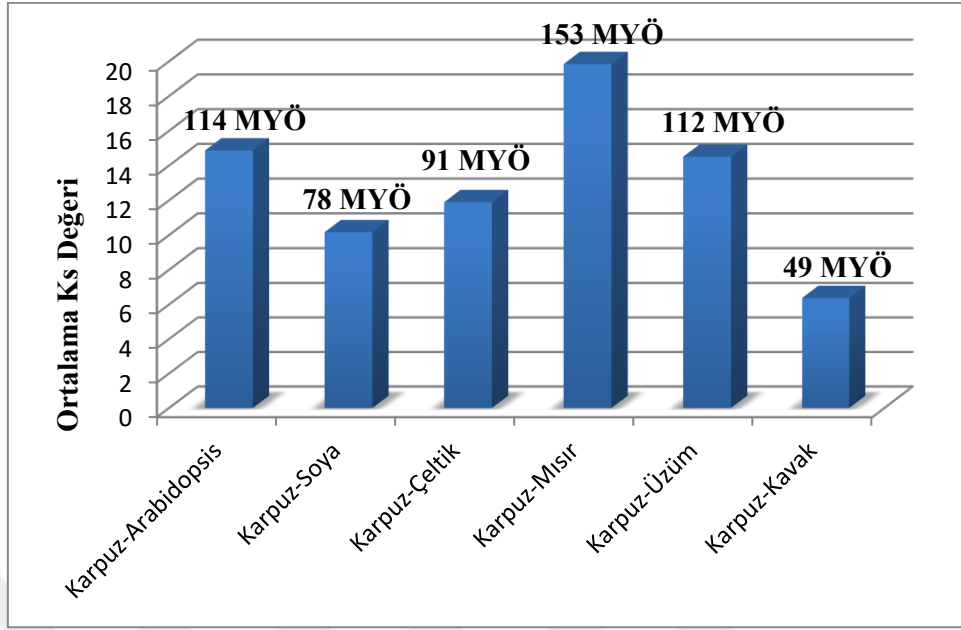
Şekil 4.26. *ClasHsp* genlerinin diğer organizmalar ile ortolog ilişkisi

ClaHsp70 gen ailesinin ortolog ilişkilerine bakıldığında ise (Şekil 4.27) en fazla ortolog ilişki 148 çift ile soya arasında olduğu belirlenmiştir. Daha sonra 113 çift ile kavak ile karpuz ortolog ilişkisi olduğu görülmüştür. En az ortolog ilişki ise 28 çift ile üzüm arasındadır. Bu organizmalar ile benzerlik oranları incelendiğinde ise *Arabidopsis*, çeltik ve mısırın neredeyse aynı benzerlik oranına (0,01) sahip olduğu görülmüştür. Üzümün ise en fazla benzerlik oranına (0,03) sahip olduğu belirlenmiştir. Muhtemel ayrılma zamanları incelendiğinde de ilk ayrılmanın 275 milyon yıl önce çeltikle olduğu görülmüştür. En geç ayrılma ise 112 milyon yıl önce kavak ile olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.27. *ClaHsp70* genlerinin diğer organizmalar ile ortolog ilişkisi

ClaHsp90 genlerinin ortolog ilişkileri incelendiğinde en fazla ortolog ilişkinin 78 çift ile kavak arasında olduğu belirlenmiştir. Ardından 52 çift ile soya arasında da yüksek ortolog ilişki olduğu görülmüştür. En az ortolog ilişki ise 11 çift ile üzüm arasında görülmüştür. Benzerlik oranları incelendiğinde ise karpuz ile *Arabidopsis*, soya, üzüm ve kavak arasında neredeyse aynı benzerlik oranına sahip olduğu belirlenmiştir. Karpuz ile çeltik ve mısırın da yaklaşık aynı benzerlik oranına sahip olduğu belirlenmiştir. Muhtemel ayrılma oranlarına bakıldığında ilk ayrılmanın 153 milyon yıl önce mısır ile olduğu görülmüştür. En geç ayrılmanın ise 49 milyon yıl önce kavak ile olduğu tahmin edilmiştir (Şekil 4.28).

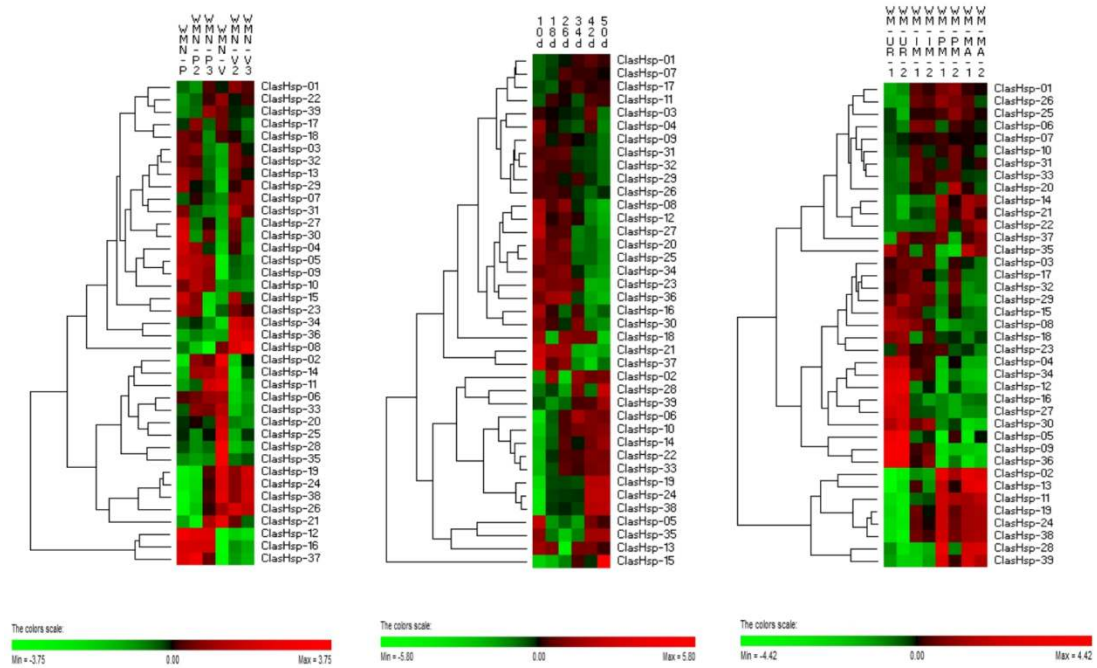


Şekil 4.28. *ClaHsp90* genlerinin diğer organizmalar ile ortolog ilişkisi

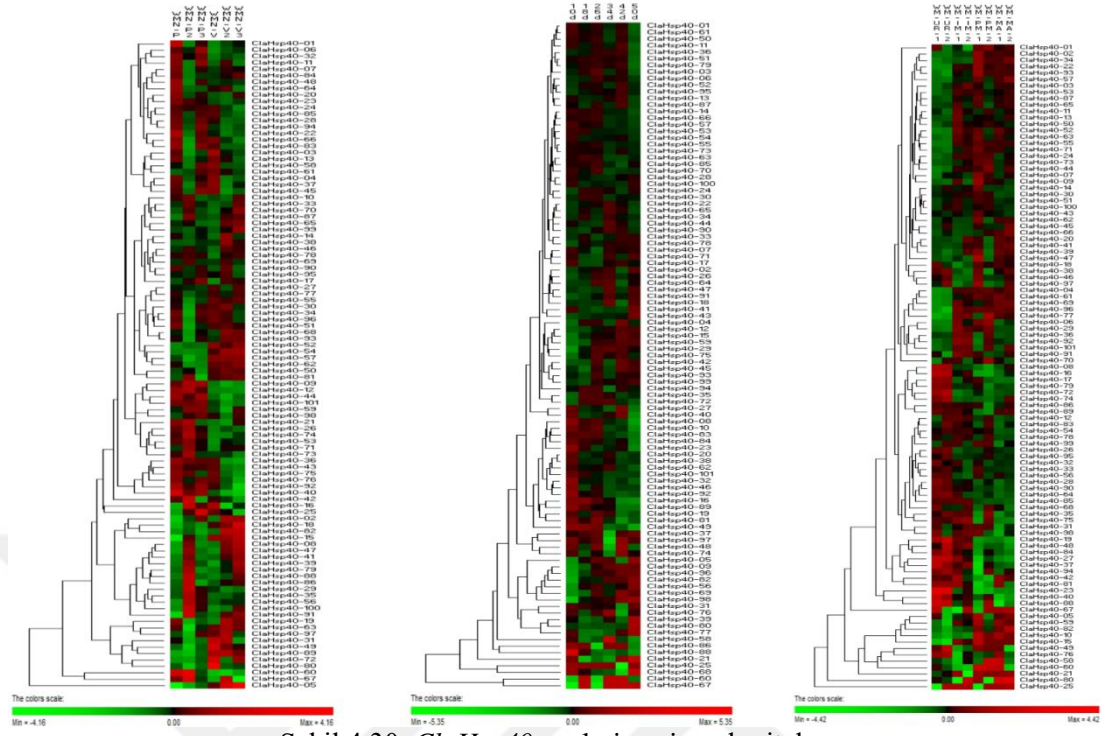
4.6. Karpuz Isı Şoku Genleri için Transkriptom Analizi

SRA veri tabanından elde edilen karpuzların çeşitli dokularının farklı stresler altında, farklı zamanlarda transkriptom verileri kullanılarak transkriptom veri analizi yapılmıştır. Karpuz *Hsp* genlerinin ifadelerini belirlemek için SRA analizi sonucu elde edilen SRR dosyaları kullanılarak her *Hsp* ailesi için ayrı ısı haritaları çizilerek karpuzun farklı dokularında stres altındaki ifade düzeyleri incelenmiştir. Döllenme sonrasında farklı zamanlarda ve farklı aşamalarda toplanmış meyvelerden ve floem ve vasküler dokulardan toplanan dokulardaki *Hsp* genleri karşılaştırılmıştır. Bu incelemeler sonucunda, sHsp için *ClasHsp-23* geninin floem doku ve vasküler dokularda, döllenmeden sonra 10., 18., 26. ve 34. günde toplanmış meyvede, 10 günlük beyaz meyvede, 18 günlük açık pembe meyvede, 28 günlük pembe meyvede, *ClasHsp-26* geninin döllenmeden sonra 10., 18. ve 26. günde toplanmış meyvede, 18 günlük açık pembe meyvede, 28 günlük pembe meyvede ve 34 günlük olgun kırmızı meyvede, Hsp40 için *ClaHsp40-15* ve *ClaHsp40-96* genlerinin vasküler ve floem dokularında, döllenmeden sonra 26., 34., 42. ve 50. günde toplanmış meyvede, 18 günlük açık pembe meyvede, 28 günlük pembe meyvede ve 34 günlük olgun kırmızı meyvede, Hsp60 için *ClaHsp60-09* ve *ClaHsp60-15* genlerinin vasküler ve floem dokularda, döllenmeden sonra 10., 18., 26., 34., 42. ve 50. günde toplanmış

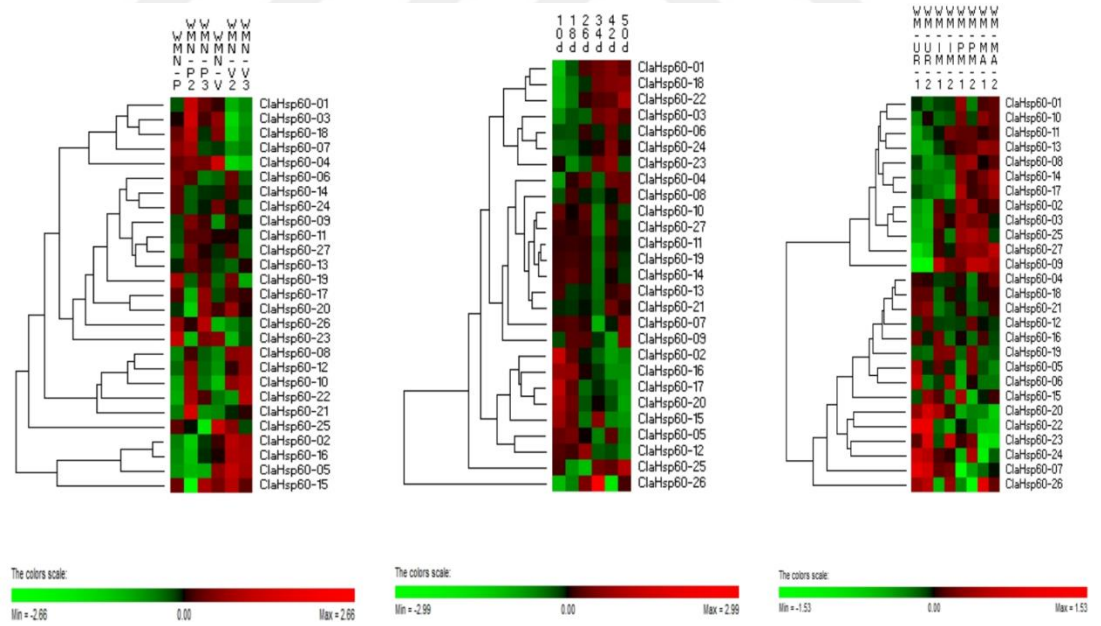
meyvede, 10 günlük beyaz meyvede, 18 günlük açık pembe meyvede, 28 günlük pembe meyvede ve 34 günlük olgun kırmızı meyvede, Hsp70 için *ClaHsp70-07* ve *ClaHsp70-10* genlerinin vasküler ve floem dokularında, döllemeden sonra 26., 34., 42. ve 50. günde toplanmış meyvede, 18 günlük açık pembe meyvede, 28 günlük pembe meyvede ve 34 günlük olgun kırmızı meyvede, Hsp90 için *ClaHsp90-04* ve *ClaHsp90-05* genlerinin vasküler ve floem dokularında, döllemeden sonra 26., 34., 42. ve 50. günde toplanmış meyvede, 10 günlük beyaz meyvede, 18 günlük açık pembe meyvede, 28 günlük pembe meyvede ve 34 günlük olgun kırmızı meyvede, Hsp100 için *ClaHsp100-54* ve *ClaHsp100-67* genlerinin vasküler ve floem dokularında, döllemeden sonra 34., 42. ve 50. günde toplanmış meyvede, 18 günlük açık pembe meyvede, 28 günlük pembe meyvede ve 34 günlük olgun kırmızı meyvede diğer *Hsp* genlerine göre daha fazla ifade edildiği gözlenmiştir. Çizilen heatmap'ler Şekil 4.29, 30, 31, 32, 33, 34'te verilmiştir.



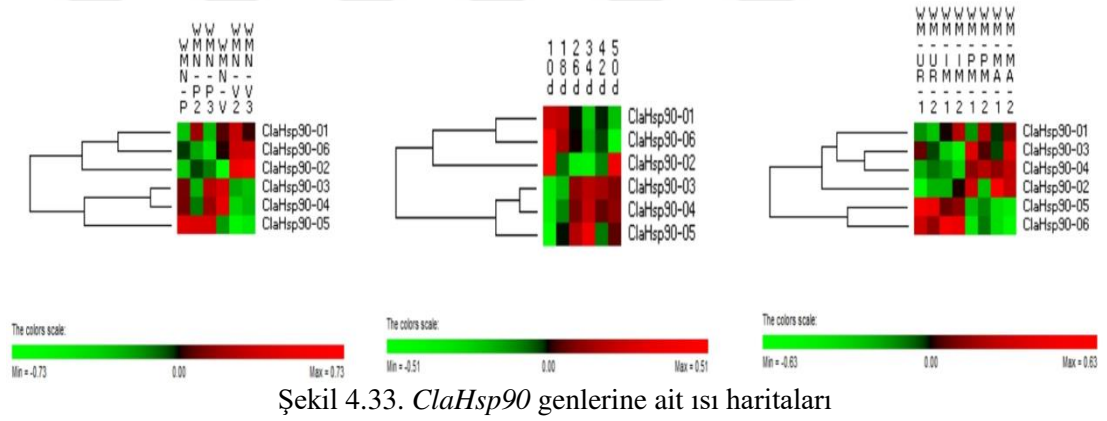
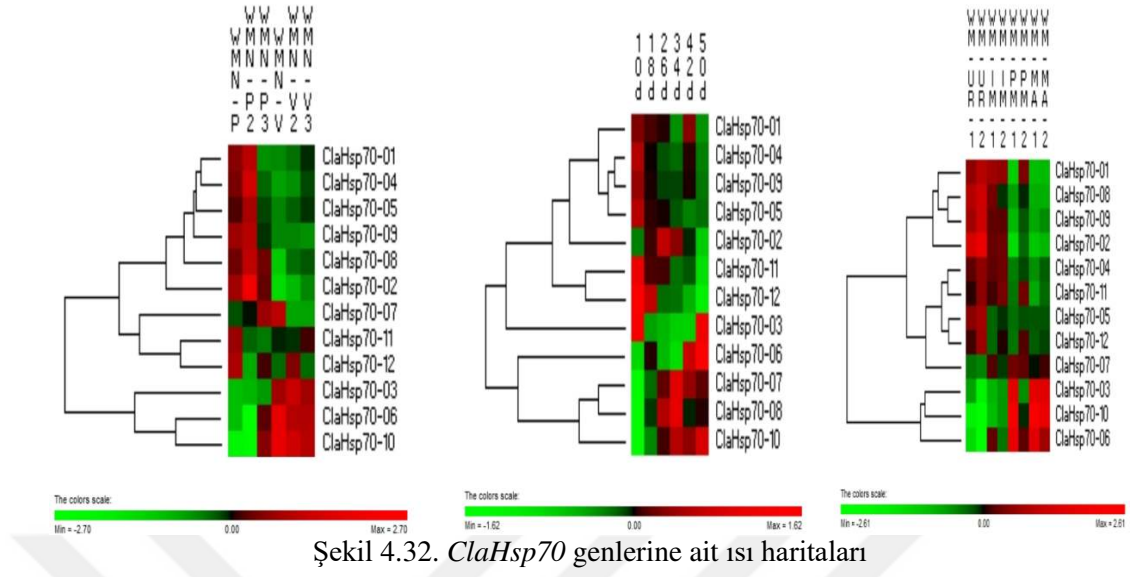
Şekil 4.29. *ClaHsp* genlerine ait ısı haritaları

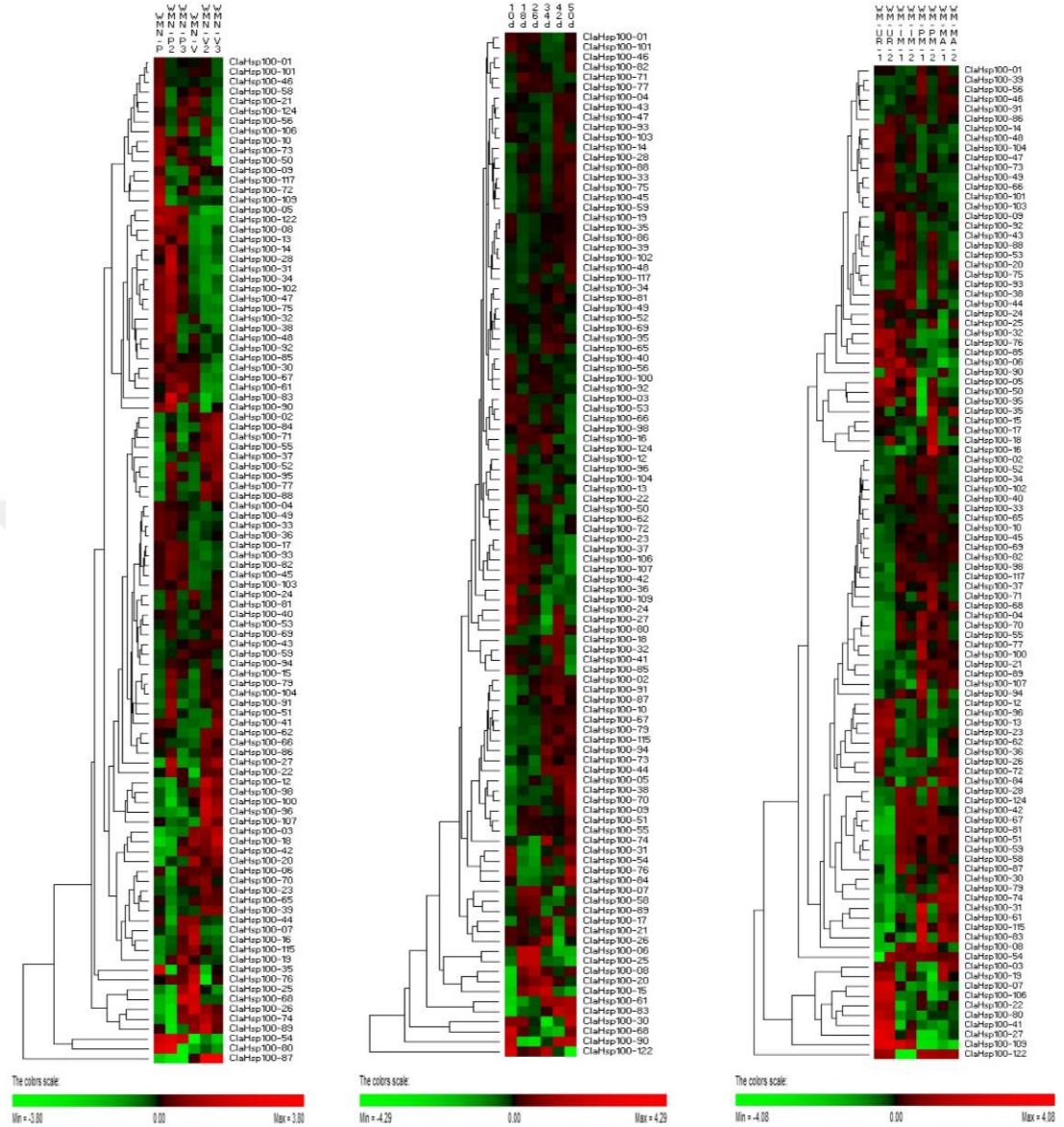


Şekil 4.30. *ClaHsp40* genlerine ait ısı haritaları



Şekil 4.31. *ClaHsp60* genlerine ait ısı haritaları





Şekil 4.34. *ClaHsp100* genlerine ait ısı haritaları

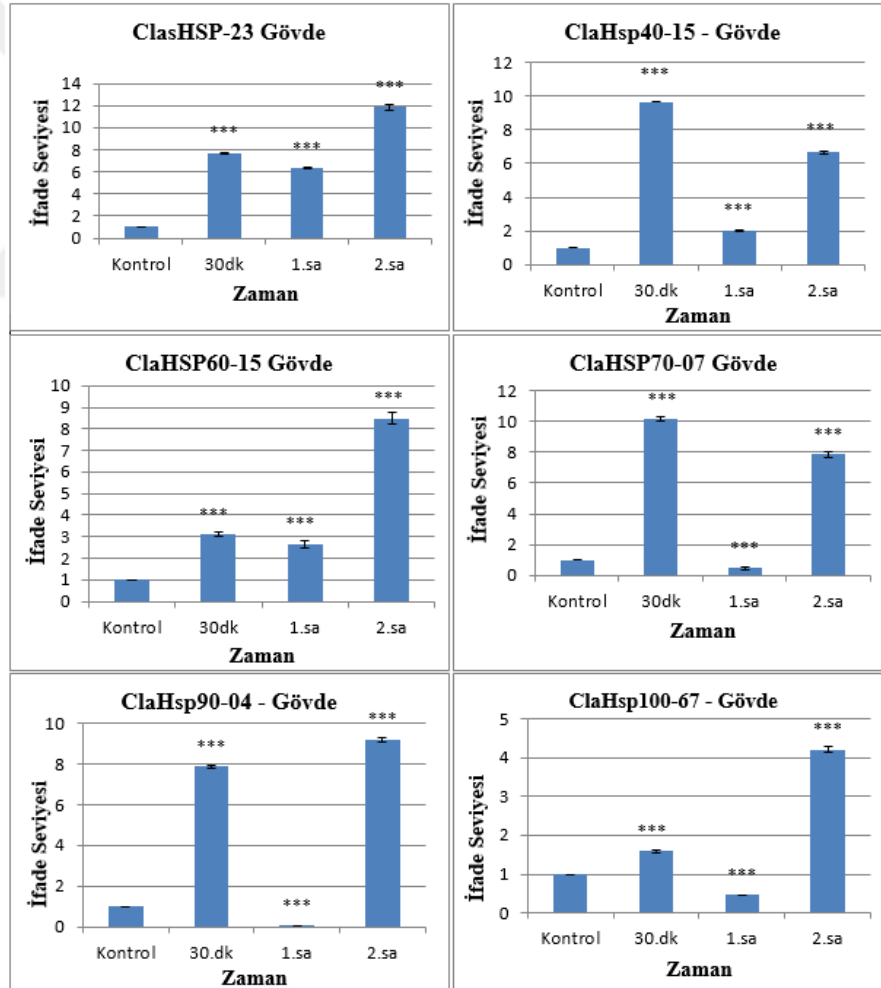
4.7. Karpuz Isı Şoku Genlerinin Sıcaklık ve Kuraklık Stresi Altında Gen İfade Analizleri

Karpuz bitkisindeki *Hsp* genlerinin ifade analizleri için, heatmap ile belirlenen her bir *Hsp* ailesine ait genler ile gerçek zamanlı PZR yapılmıştır. Gerçek zamanlı PZR için kullanılacak primerler ve cDNA örneklerinin optimizasyonu yapılmıştır. Optimizasyon sonucunda *sHsp*, *Hsp60* ve *Hsp70* genlerine ait primerlerin 57°C sıcaklıkta, *Hsp40*, *Hsp90* ve *Hsp100* genlerine ait primerlerin ise 55°C sıcaklıkta daha iyi çalıştığı belirlenmiştir.

cDNA için yapılan PZR'nin sonuçlarına bakıldığında da cDNA'ların çalıştığı görülmüştür.

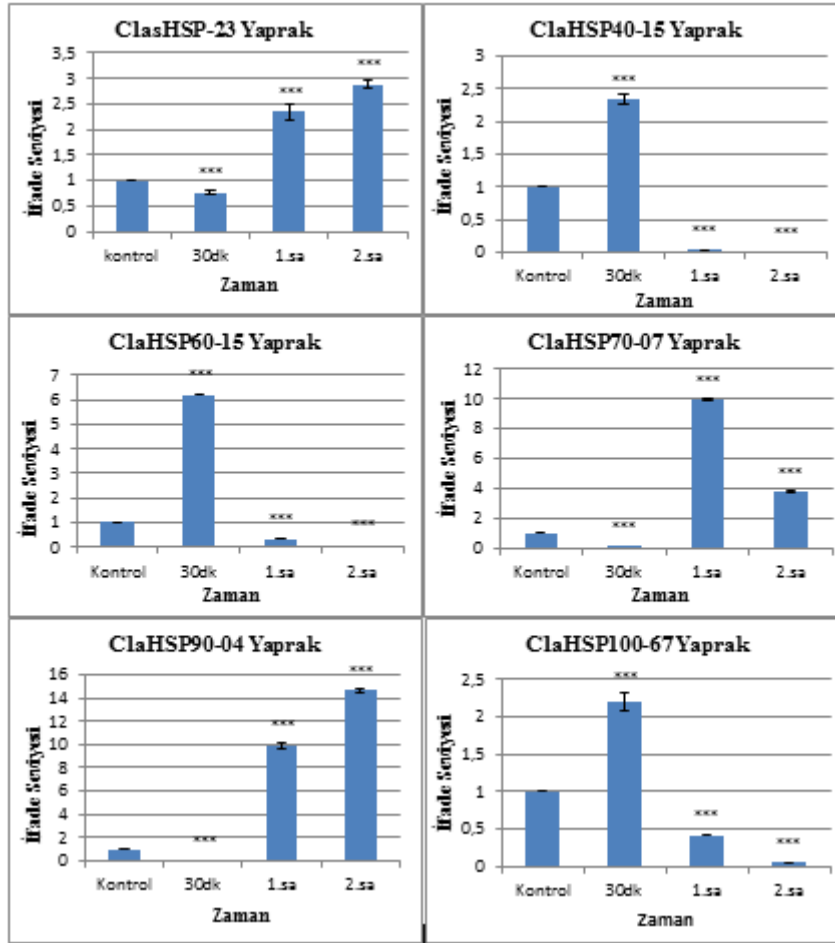
Daha sonra her Hsp ailesi için kök, gövde, yaprak ve sürgün örnekleri ile gerçek zamanlı PZR yapılmış, zamana bağlı ifade grafikleri çizilmiş ve ek olarak erime eğrileri incelenmiştir.

Karpuz gövde örneğinin ifade seviyeleri incelendiğinde, çalışılan tüm Hsp ailelerinin (*ClasHsp-23*, *ClaHsp40-15*, *ClaHsp60-15*, *ClaHsp70-07*, *ClaHsp90-04*, *ClaHsp100-67*) ifadesinde 30. dakikada artış olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.35). Ardından 1. saatte ifadeleri azalmış ve 2. saatte tekrar bir artış olduğu belirlenmiştir.



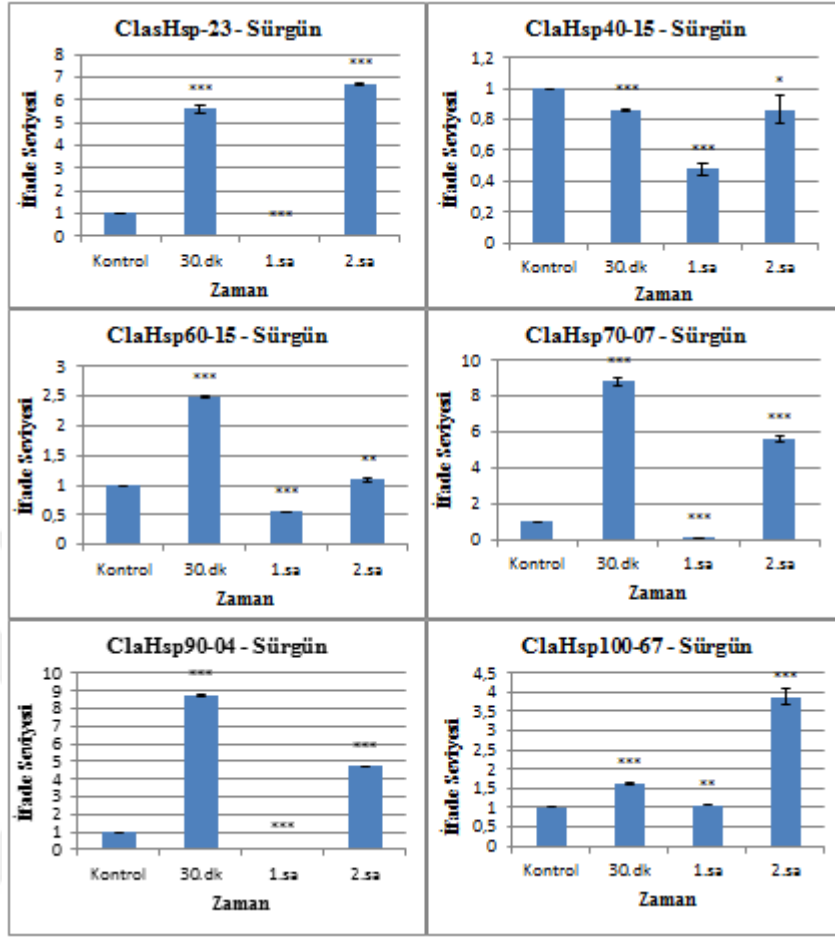
Şekil 4.35. Karpuz gövde örneklerinin gerçek zamanlı PZR sonuçları

Karpuz yaprak örneği incelendiğinde, *ClasHsp-23* geninde 1. saatten itibaren belirli bir düzeyde artış olduğu gözlenmiştir. *ClaHsp40-15*, *ClaHsp60-15* ve *ClaHsp100-67* genleri için 30. dakikaya kadar anlamlı bir artış ve daha sonraki saatlerde azalma gözlenmiştir. Ayrıca *ClaHsp60-15* ve *ClaHsp100-67* genleri için en fazla ifadenin 30. dakikada olduğu gözlenmiştir. *ClaHsp70-07* ve *ClaHsp90-04* genlerinde ise strese ilk tepkinin 1. saatte olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.36).



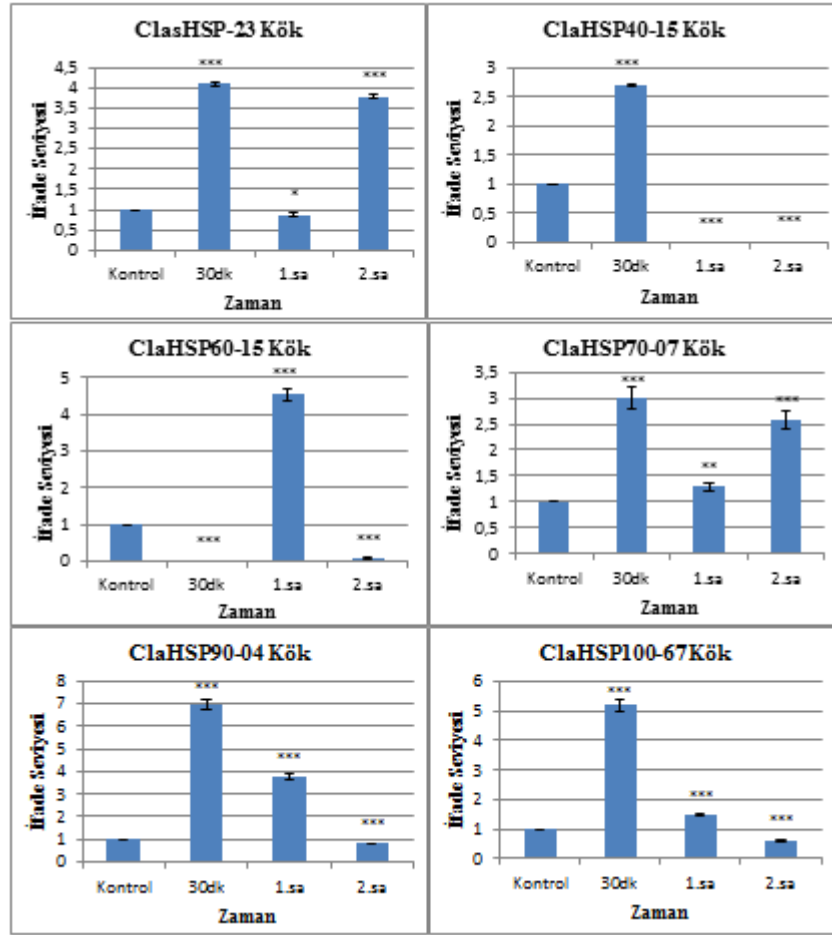
Şekil 4.36. Karpuz yaprak örneklerinin gerçek zamanlı PZR sonuçları

Karpuz sürgün örneğine bakıldığında, Şekil 4.37’de görüldüğü gibi, *ClasHsp-23*, *ClaHsp60-15*, *ClaHsp70-07*, *ClaHsp90-04* ve *ClaHsp100-67* genlerinde ifadenin 30.dakikada arttığı, ardından 1. saatte azaldığı ve 2. saatte tekrar ifade artışının olduğu gözlenmiştir. Sürgün örneklerinde kombine kuraklık ve sıcaklık stresine en yüksek seviyede yanıtın ise *ClaHsp70-07* ve *ClaHsp90-04* genlerinin 30. dakikadaki yanıtları olduğu görülmüştür.



Şekil 4.37. Karpuz sürün örneklerinin gerçek zamanlı PZR sonuçları

Karpuz kök örneği incelendiğinde ise, *ClaHsp40-15*, *ClaHsp90-04* ve *ClaHsp100-67* genlerinde 30. dakikaya kadar bir artış olduğu daha sonra ifadenin azaldığı gözlenmiştir. *ClaHsp23* ve *ClaHsp70-07* genlerinde 30. dakikada ifadede bir artış ardından 1. saatte azalma ve 2. saatte tekrar bir artış olduğu gözlenmiştir. *ClaHsp60-15* geninde ise en fazla ifadenin 1. saatte olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.38).



Şekil 4.38. Karpuz kök örneklerinin gerçek zamanlı PZR sonuçları

Elde edilen sonuçlar birlikte göz önüne alındığında; karpuzun gövde dokusunda çalışılan bütün genlerin ifade düzeylerinde kombine kuraklık ve sıcaklık stresinin ilk 30 dakikası içinde hızlı bir yükseliş, ardından 1. saatte azalış ve 2. saatte tekrar bir artış gözlenirken, gövde ve sürgün doku örneklerinde bu periyodu ortak olarak *ClasHsp-23*, *ClaHsp60-15*, *ClaHsp70-07*, *ClaHsp90-04* ve *ClaHsp100-67* genlerinin gösterdiği belirlenmiştir. Bunun yanında stres altındaki gövde, sürgün ve kök örneklerinde ise bu periyot, *ClasHsp-23* ve *ClaHsp70-07* genlerinde ortak olarak gözlenmiştir. *ClasHsp-23* ve *ClaHsp70-07* genleri, gövde, kök ve sürgün dokularda strese ilk cevap veren genler olarak nitelendirilebilir. Ayrıca *ClaHsp100-67* gen ifadesi, çalışılan bütün dokularda ortak olarak stresin ilk 30. dakikasında hızlı bir artış göstermiştir. *ClaHsp100-67* geni de kombine kuraklık ve sıcaklık stresine yanıtta tüm dokularda erken yanıt geni olarak düşünülebilir.

5. TARTIŞMA VE ÖNERİLER

Dünya genelinde, karasal bitkiler, çevresel faktörlerden güçlü bir şekilde etkilenmektedir. Bunların arasında kuraklık, bitkilerin verimliliğini sınırlayan en önemli faktörlerden biridir. Kuraklığın bitkiler üzerindeki fizyolojik etkileri karmaşık ve çeşitlidir. Bitkilerin su stresine karşı fizyolojik tepkileri çeşitli fonksiyonel proteinlerin indüksiyonu ile ilişkilidir (Akashi vd., 2011).

Isı şoku proteinleri de (Hsp) biyotik ve abiyotik stres koşullarında ifadeleri artan önemli bir protein ailesidir. Hsp'ler esas olarak sitoplazmada yer alırlar, ancak stres koşulları altında hücrel sinyalleri çekirdeğe transfer etmede de görev alırlar. Hsp'ler sitoplazmaya ek olarak, endoplazmik retikulum, kloroplastlar, mitokondri ve nükleus gibi diğer organellerde de yer alırlar. Hsp'lerin, sıradan hücrel büyüme ve gelişme sırasında protein katlanması, toplanması, translokasyonu ve bozunmasından sorumlu olduğu iyi bilinmektedir. Ayrıca Hsp'ler proteinlerin stabilizasyonu ve stres koşullarında protein katlanmasına yardımcı olurlar (Park ve Seo, 2015).

Tarlada ya da doğada bitkiler, sıklıkla kuraklık ve ısı şoku gibi streslerin kombinasyonuna maruz kaldığı için, bitkilerin farklı streslerin birleşimine tepkilerini araştırmak, bitkilerde stres toleransının anlaşılması için çok önemli olabilir.

Bu çalışmada, karpuz bitkisinde, sıcaklık ve kuraklık stres kombinasyonlarına karşı Hsp proteinlerinin ekspresyon profillerindeki değişimler incelenerek bu streslere verdiği yanıt daha iyi anlaşılmasına çalışılmıştır. Çalışmada yapılan biyoinformatik analizler sonucunda karpuz bitkisi genomunda her Hsp ailesine ait farklı sayılarda genler bulunmuştur. Hsp40 ve Hsp100 aileleri sırası ile 101 ve 102 gen ile en fazla gen sayısına sahip ailelerdir. Ardından sHsp ailesine ait 39 gen ve Hsp60 ailesine ait 23 gen bulunmuştur. Karpuz genomunda en az sayıda gen bulunduran Hsp aileleri ise 12 ve 6 gen ile Hsp70 ve Hsp90'dır.

Hsp100 / ClpB proteinleri, çeşitli organizmalarda yüksek sıcaklığa toleransta önemli bir role sahiptir (Hong ve Vierling, 2001). Bundan dolayı sıcak iklimde yetişen karpuz bitkisinde *Hsp100* genlerinin yüksek çıkması beklenen bir durumdur.

Hsp ailelerinden, Hsp70 ailesinin üyeleri bugüne kadar en kapsamlı olarak incelenen stres proteinleri grubudur. Hsp70 ailesinin bazı üyeleri yapısal olarak ifade edilirken, diğerleri kesinlikle stresle uyarılabilir (Whitley vd., 1999). Bitkilerdeki Hsp70 ailesi ile ilgili yapılan diğer çalışmalara bakıldığında; okaliptüste 21 adet (Çelik Altunoğlu, 2016), Arabidopsis’de 18 adet, çeltikte 32 adet, kavakta 34 adet, kayında 13 adet, meşede 17 adet ve kestanede 15 adet *Hsp70* gen ailesi tanımlanmıştır (Yer et al., 2016). Bu sonuçlara bakıldığında karpuz *Hsp70* genlerinin sayısının diğer türler ile uygun olduğu anlaşılmaktadır. *Arabidopsis thaliana* genomuna bakıldığında, Hsp ailesi genlerinden, 29 adet *Hsp60* geni (Hill ve Hemmingsen, 2001), 7 adet *Hsp90* geni (Krishna & Gloor, 2001), 13 adet *sHsp* geni (Scharf vd., 2001) tanımlanmıştır. Yapılan diğer çalışmalar incelendiğinde ise asma genomunda toplamda 222 adet, soya genomunda toplamda 118 adet ve mısır genomunda toplamda 264 adet *Hsp* geni olduğu belirlenmiştir. *P. trichocarpa* (kavak) genomunda yapılan bir başka çalışmada Hsp ailelerinden sHsp’ye ait 60 adet, Hsp40’a ait 145 adet, Hsp60’a ait 49 adet, Hsp90’a ait 12 adet ve Hsp100’e ait 90 adet gen tanımlanmıştır (Yer, 2017).

Yapılan bu çalışmalar ile karpuz genomunda tespit ettiğimiz *Hsp* genlerini karşılaştırdığımızda da sayıların benzerlik gösterdiği görülmektedir. Ayrıca Hsp70 proteininin ko-şaperonu olarak görev yapan Hsp40 proteinlerinin sayısının Hsp70’e göre yüksek olması da beklenen bir durumdur ve literatürdeki bilgiler ile eşleşme göstermektedir.

Elde edilen *ClasHsp* genlerinin karakterizasyonunu belirlemek amacıyla yapılan biyoinformatik analizler sonucunda tüm Hsp ailelerinin kromozomlar üzerindeki yerleri, amino asit uzunlukları, moleküler ağırlıkları, izoelektronik değerleri ve kararsızlık durumları tespit edilmiştir. Belirlenen sonuçlar Ek (3-4-5-6-7-8)’te detaylı olarak verilmiştir.

Bu verilere göre ClasHsp ailesine ait 39 adet proteinin aminoasit uzunlukları 97 ile 509 aa arasında değişmektedir. Bu proteinlerden 29 tanesi asidik, 9 tanesi bazik özellik göstermektedir. Belirlenen ClasHsp proteinlerinin moleküler ağırlıkları, 11127.89 Da ile 56238.70 Da arasında değişkenlik göstermektedir. ClasHsp proteinlerinin yaklaşık %84,6’sının kararsız durumda olduğu belirlenmiştir. Araştırmacıların kavak sHSP proteinleri ile ilgili yaptığı bir çalışmada bu

proteinlerin uzunluklarının 53 aa ile 539 aa arasında olduğunu, moleküler ağırlıklarının 5994.97 Da – 60644.94 Da arasında olduğunu, %71'inin asidik karakterde ve %77'sinin kararlı yapıda olduğunu belirlemişlerdir (Yer, 2017). Patates genomunda yapılan bir çalışmada ise belirlenen sHsp proteinlerinin amino asit uzunluklarının 133 aa ile 303 aa arasında olduğu, %60'ının asidik olduğu belirlenmiştir (Zhao vd., 2018).

101 adet ClaHsp40 proteinlerinin moleküler ağırlıkları 11599.51 Da ile 279446.46 Da arasında değişirken, amino asit uzunlukları 60 aa (ClaHsp40-01) ile 2548 aa (ClaHsp40-53) arasında değişmektedir. Proteinlerin 62 tanesi asidik karakter gösterirken 39 tanesinin bazik karakterde olduğu ve yaklaşık %77'sinin kararsız durumda olduğu belirlenmiştir. Kavak bitkisinde yapılan çalışmada Hsp40 proteinlerinin amino asit uzunlukları 70 aa ile 2614 aa arasında, moleküler ağırlıklarının 7764.55 Da ile 286398.43 Da arasında olduğu bulunmuş ve bu proteinlerin %59'unun bazik karakterde olup %66'sının kararlı durumda olduğu belirlenmiştir (Yer, 2017).

23 adet ClaHsp60 proteini incelendiğinde moleküler ağırlıklarının 14492.87 Da-192143.35 Da arasında olduğu, protein uzunluklarının 57 aa (ClaHsp60-21) ile 1741 aa (ClaHsp60-12) arasında değiştiği gözlenmiştir. Bu proteinlerin 17'sinin asidik, 6 tanesinin bazik özellik gösterdiği ve yaklaşık %83'ünün kararlı olduğu belirlenmiştir.

12 adet ClaHsp70 proteininin amino asit uzunlukları 571 aa (ClaHsp70-04) ile 898 aa (ClaHsp70-12) arasındadır ve moleküler ağırlıkları 62065.52 Da- 100054.81 Da arasındadır. ClaHsp70 proteinlerinin hepsinin asidik karakterde olduğu görülmüştür. %66.66'sı ise kararlı yapıda olduğu belirlenmiştir. Çeltikte yapılan Hsp70 ailesi ile ilgili bir çalışmada belirlenen çeltik Hsp70 proteinlerinin amino asit uzunluklarının 215 aa ile 698 aa arasında olduğu belirlenmiştir (Sarkar vd., 2013). Kavak genomundaki Hsp'ler ile ilgili yapılan çalışmada Hsp70 proteinlerinin moleküler ağırlıkları 11005.4 Da-111276.3 Da arasında olduğu, protein uzunluklarının 99 aa-972 aa arasında olduğu ve %85 oranında asidik karakterde olduğu belirlenmiştir (Yer, 2017).

ClaHsp90 ailesine ait 6 proteinin amino asit uzunlukları 699 aa (ClaHsp90-03, ClaHsp90-04, ClaHsp90-05) ile 811 aa (ClaHsp90-06) arasında değişirken, moleküler ağırlıkları 80042.19 Da - 92837.39 Da arasında değişmektedir. ClaHsp90 proteinlerinin de tamamının ClaHsp70 proteinleri gibi asidik karakterde olduğu ve %83.33'ünün kararlı yapıda olduğu görülmüştür. Yapılan bir çalışmada *Oryza sativa* bitkisinde Hsp90 proteinlerinin uzunluğunun 699 aa ile 830 aa arasında değiştiği, çalışılan bu proteinlerin tümünün asidik karakterde olduğu ve moleküler ağırlıklarının 80194.04 Da ile 94195.46 Da arasında değiştiği belirlenmiştir. Yine aynı çalışmada *Triticum aestivum*'da Hsp90 proteinlerinin uzunluğunun 615 aa ile 828 aa arasında değiştiği, moleküler ağırlıklarının 63993.24 Da ile 94182.74 Da arasında olduğu ve tümünün asidik özellikte olduğu belirlenmiştir. *Glycine max* Hsp90 proteinlerinin uzunluklarının 699 aa ile 847 aa arasında olduğu, molekül ağırlıklarının 75877.28 Da ile 97379.42 Da arasında değiştiği ve bu proteinlerinde asidik karakterde olduğu belirlenmiştir (Zhang vd., 2017). Kavaktaki çalışmada ise Hsp90 proteinlerinin uzunlukları 151 aa - 823 aa arasında değişmektedir. Molekül ağırlıkları 17540.71 Da ile 94046.84 Da arasında olduğu ve hepsinin asidik karakterde olduğu belirlenmiştir (Yer, 2017).

102 adet ClaHsp100 proteinlerinin moleküler ağırlığı 25499.63 Da - 211183.80 Da arasında değişmektedir. Amino asit uzunlukları 149 aa (ClaHsp100-73) ile 1911 aa (ClaHsp100-49) arasında değişmektedir. Bu proteinlerin 66 tanesi asidik, 34 tanesi bazik özelliktedir. Bunlardan %72.5'inin kararsız yapıda olduğu belirlenmiştir. Kavak genomundaki çalışmada Hsp100 proteinlerine bakıldığında ise protein uzunluklarının 69 aa ile 5410 aa arasında değiştiği, molekül ağırlığının 7971.71 Da ile 613915.80 Da arasında değiştiği ve %62'sinin asidik özellik gösterdiği belirlenmiştir (Yer, 2017).

Karpuz genomunda belirlenen 283 adet *ClaHsp* genleri, 11 karpuz kromozomuna dağılmıştır. *ClaHsp* genleri en fazla 5. kromozomda yerleşmiş, en az ise 11. kromozomda yerleşmiştir. Karpuz bitkisi genomundaki Hsp ailelerine ait genler bu çalışma ile ilk kez belirlenmiştir.

ClaHsp genleri arasındaki evrimsel ilişkileri değerlendirmek amacıyla filogenetik analizler yapılmıştır. İlk olarak filogenetik ağaç çizilmiştir. Filogenetik ağacın

doğruluğunu kontrol etmek için motif analizi yapılmıştır. Bu analizler incelendiğinde, 39 ClasHSP proteininin filogenetik ağaçta 4 ana kola ayrılarak, 101 ClaHSP40 proteininin 5 ana kola ayrılarak, 23 ClaHsp60 proteininin 6 ana kola ayrılarak, 12 ClaHsp70 proteininin 6 ana kola ayrılarak, 6 ClaHsp90 proteininin 4 ana kola ayrılarak, 102 ClsHsp100 proteininin 6 ana kola ayrılarak sınıflandığı görülmüştür. Her Hsp ailesi ana kolların altında farklı sayıda alt gruplara ayrılmıştır. Bu genlerin motif analizlerine bakıldığında her Hsp ailesi filogenetik ağaç ile uygun şekilde motif kalıpları içerir. Yapılan diğer çalışmalardaki filogenetik analizler incelendiğinde, en fazla çalışılan Hsp ailelerinden biri olan Hsp70 proteinlerinin, kavakta 3 ana kola ayrıldığı (Yer vd, 2016), ökaliptus Hsp70 proteinlerinin 5 ana kola ayrıldığı (Çelik Altunoğlu, 2016) görülmüştür. Bunların motif kompozisyonlarına bakıldığında ise karpuzda olduğu gibi filogenetik ağaca benzer şekilde motif kompozisyonu içerdiği tespit edilmiştir. Hsp'ler ile ilgili yapılan diğer çalışmalar incelendiğinde Hsp ailelerinin farklı sınıflara ayrılarak her sınıfın farklı alt gruplara ayrıldığı belirlenmiştir (Lin vd., 2001).

ClaHsp genlerinin yapısının incelenmesi amacıyla ekzon-intron yapıları belirlenmiştir. ClasHsp, ClaHsp40 ve ClaHsp70 ailelerinde ekzon-intronlar yaklaşık olarak eşit sayıda iken ClaHsp100'de çok az intron olduğu belirlenmiş ve ClaHsp60 ve ClaHsp90 ailelerinde hiç intron gözlenmemiş, tamamının ekzon olduğu belirlenmiştir. Yapılan diğer çalışmalar incelendiğinde, *A. thaliana* genomundaki Hsp ailelerinden sHsp, Hsp70 ve Hsp100 ailelerinde ekzon yapısının çoğunlukta olduğu görülmüştür (Zhang vd., 2015). Okalıptus genomundaki Hsp70 ailesi incelendiğinde ise karpuz Hsp70 ailesinde olduğu gibi yaklaşık olarak eşit sayıda ekzon intron içerdiği görülmüştür (Çelik Altunoğlu, 2016). Ekzon-intron uzunluğu gibi aynı fiziksel yapıya sahip genlerin filogenetik ağaçta da aynı sınıfta bulundukları görülmüştür. Buradan ekzon-intron yapıları ile filogenetik ağaç sonuçlarının benzerlik gösterdiği sonucuna ulaşılmaktadır.

ClaHsp ailelerinin her birine gen ontoloji analizleri yapılarak her ailenin moleküler fonksiyonları, biyolojik işlevleri ve hücrede nerede bulundukları belirlenmiştir. Bunun sonucunda her Hsp ailesinin moleküler fonksiyonunun ağırlıklı olarak bağlanma olduğu görülmüştür. Biyolojik işlevleri ise çoğunlukla uyaranlara cevap

olmakla birlikte, hücresel ve metabolik süreçlerde, biyolojik işlevlerin düzenlenmesinde görev aldıkları belirlenmiştir. Hücrede ise farklı kısımlara dağılmış halde bulunduğu görülmüştür. Ağırlıklı olarak ise hücrenin iç kısımlarında, membranda ve organellerde bulunduğu gözlenmiştir. Literatürdeki diğer çalışmalar incelendiğinde Hsp ailelerinin hücre içi kısımlarda çoğunlukla görüldüğü tespit edilmiştir (Çelik Altunoğlu, 2016). Karpuz Hsp proteinleri de bu çalışmalarla paralellik göstermektedir.

Karpuz genomundaki *Hsp* genlerinin diğer organizmalarla karşılaştırılması yapılarak, yapı bakımından farklı ancak fonksiyonel olarak benzer genler yani ortolog genleri belirlenmiştir. Bu çalışma ile *ClasHsp* genlerinin evrimsel süreçleri hakkında bilgi sahibi olunmuş ve Arabidopsis, soya, çeltik, kavak, asma ve mısır organizmaları ile karpuz arasındaki ortolog ilişki belirlenmiştir.

Bunun sonucunda *ClasHsp* genlerinin ortolog ilişkileri incelendiğinde, en fazla ortolog ilişkinin 47 çift ile soya arasında olduğu belirlenmiştir. En az ortolog ilişki ise 5 çift ile asma ile gerçekleşmiştir. Benzerlik oranlarına bakıldığında, *ClasHsp* genlerinin soya, asma ve kavak ile neredeyse aynı benzerlik oranına (0,05) sahip olduğu görülmüştür. *ClasHsp* genleri ile Arabidopsis ve çeltik arasındaki benzerlik oranının da (0,03) aynı olduğu belirlenmiştir. *ClasHsp* ile mısır ise 0,02'lik benzerlik oranı ile en düşük benzerlik oranına sahiptir. *ClasHsp* genleri ile bu organizmalar arasındaki muhtemel ayrılma zamanları incelendiğinde, ilk ayrılmanın 227 milyon yıl önce Arabidopsis ile olduğu belirlenmiştir. Daha sonra 203 milyon yıl önce çeltik ile ayrılma olduğu belirlenmiştir. En geç ayrılmanın ise 18 milyon yıl önce asma ile olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlara bakılarak 227 milyon yıl önce ayrılma gösteren *ClasHsp* genleri ile Arabidopsis arasında en fazla farklılaşmanın olduğu tahmin edilmektedir.

ClasHsp70 genlerinin diğer organizmalar ile ortolog ilişkileri incelendiğinde, en fazla ortolog ilişki 148 çift ile soyada belirlenmiştir. Ardından 113 çift kavak ile, 90 çift çeltik ile, 87 çift mısır ile, 74 çift Arabidopsis ile, 28 çift asma ile ortolog ilişkisinin olduğu görülmüştür. Bu ortolog ilişkilerdeki benzerlik oranlarına bakıldığında ise en fazla benzerlik oranına sahip organizmanın 0,03 ile asma olduğu görülmüştür. Soya ve kavağın aynı benzerlik oranına (0,02) sahip olduğu görülmüştür. Arabidopsis,

çeltik ve kavağın en düşük benzerlik oranına (0,01) sahip olduğu belirlenmiştir. Bu organizmalar ile *ClaHsp70* genleri arasındaki muhtemel ayrılma zamanları incelendiğinde, ilk ayrılmanın 275 milyon yıl önce çeltik ile olduğu görülmüştür. Daha sonra 230 milyon yıl önce mısır ile ayrılma olduğu görülmüştür. Arabidopsis ve soyanın ise hemen hemen aynı ayrılma zamanına sahip olduğu görülmüştür. En geç ayrılma ise 112 milyon yıl önce kavak ile olmuştur.

ClaHsp90 genlerinin ortolog ilişkileri incelendiğinde; en fazla ortolog ilişkinin 78 çift ile kavak arasında olduğu belirlenmiştir. Daha sonra 52 çift ile soya, 37 çift ile mısır, 32 çift ile çeltik, 30 çift ile Arabidopsis ve 11 çift ile üzüm arasında olduğu belirlenmiştir. Bu genler arasındaki benzerlik oranına bakıldığında; asma, kavak, Arabidopsis ve soya arasında aynı benzerlik oranına sahip olduğu tespit edilmiştir. Muhtemel ayrılma zamanları incelendiğinde ise ilk ayrılmanın 153 milyon yıl önce mısır ile olduğu belirlenmiştir. Böylece en fazla farklılaşmanın mısır ile olduğu tahmin edilmektedir. En geç ayrılma ise 49 milyon yıl önce kavak ile olduğu görülmüştür.

Bu analizlerin sonucu ele alındığında karpuz *Hsp* genleri ile kavak organizmasındakilerin diğer organizmalara göre daha geç ayrıldığı ve bundan dolayı farklılaşmanın kavak ile daha az olduğu düşünülmektedir. Ayrıca bu organizmalar ile *ClaHsp* genleri arasındaki evrimsel ilişkinin daha iyi anlaşılması hedeflenmiştir. Bu evrimsel ilişki kullanılarak ilerideki bitki ıslahı ve klonlama çalışmalarında daha büyük verimlerin elde edilebileceği düşünülmektedir. Grubumuzca yapılan başka bir çalışma ile de karpuz ile kavak arasında *LEA* genlerinde yüksek benzerlik olduğu belirlenmiştir. Ayrıca *LEA* genlerinde en geç ayrılma zamanının da yine karpuz ile kavak arasında olduğu görülmüştür (Altunoğlu, 2017).

Karpuz genomundaki bu genlerin miRNA analizleri incelendiğinde, *ClasHsp* ailesinden *ClasHsp-11* genini hedefleyen miRNA'lar mtr-miR2673a ve mtr-miR2673b'dir. Literatüre bakıldığında miR2673'ün kuraklık ile ilişkili bir miRNA olduğu görülmektedir (Yang vd., 2013). *ClaHsp40* ailesinde *ClaHsp40-05*, *ClaHsp40-06*, *ClaHsp40-30* ve *ClaHsp40-31* genlerinin ath-miR870-5p, bdi-miR7787-5p, stu-miR8046-3p, sbi-miR529 ve osa-miR529a miRNA'ları tarafından hedeflendiği görülmüştür. *ClaHsp60* ailesinden *ClaHsp60-01*, *ClaHsp60-10* ve

ClaHsp60-12 genlerinin osa-miR5522, ata-miR172a-5p ve ath-miR414 miRNA'ları tarafından hedeflendiği belirlenmiştir. miR172'nin Arabidopsis'de çiçek gelişimi ile ilgili transkripsiyon faktörlerinin kodlanması ve kuraklık stresi ile ilişkili olduğu tanımlanmıştır. Bundan dolayı bitki gelişimi ve metabolizmasında ve strese karşı cevapta önemli bir miRNA olduğu düşünülmektedir (Yang vd., 2013). Ayrıca miR414 ile ilgili literatürdeki diğer çalışmalara bakıldığında, bitki büyümesi ve gelişiminin düzenlenmesinde çok önemli bir rol oynadığı belirlenmiştir (Guleria ve Kumar Yadav, 2011). *ClaHsp70* ailesinden *ClaHsp70-07* genini hedefleyen miRNA'nın osa-miR2875 olduğu belirlenmiştir. *ClaHsp90* ailesine ait genleri hedefleyen bir miRNA bulunamamıştır. *ClaHsp100* ailesi ise miRNA'lar tarafından en fazla hedeflenen Hsp ailesidir. *ClaHsp100-05*, *ClaHsp100-11*, *ClaHsp100-15*, *ClaHsp100-16*, *ClaHsp100-58*, *ClaHsp100-85*, *ClaHsp100-86*, *ClaHsp100-91*, *ClaHsp100-96* ve *ClaHsp100-97* genleri; miR6473, miR1311, miR414, miR2673, miR8576, miR5209, miR9778, miR167i, miR5658 ve miR614c miRNA'ları tarafından hedeflenmiştir. Toplamda 19 farklı karpuz *Hsp* geninin 23 farklı miRNA tarafından hedeflendiği belirlenmiştir.

Ayrıca kombine kuraklık ve sıcaklık stresleri de uygulanarak bu genlerdeki ifade seviyeleri gerçek zamanlı PZR analizleri ile incelenmiştir. Bu analizlerin sonuçlarına genel olarak bakıldığında, karpuz bitkisinin tüm örneklerinde Hsp ailelerinin hemen hemen çoğunda 30. dakikada yüksek ifade gösteren bir kalıp göze çarpmaktadır. Bunun strese karşı ilk tepki olduğu düşünülmüştür. Ardından genellikle ifade seviyesi düşmüştür ve 2. saatte tekrar ifade seviyesinde artış olmuştur. 30. dakikadaki artışın yeterli gelmemesi üzerine 2. saatte tekrar artışın olduğu düşünülmektedir. Arabidopsis üzerinde yapılan bir çalışmada bazı *Hsp70* genlerinin, 40°C ısı stresi altında 30. dakikadan itibaren ifade seviyesinin 2 ile 20 kat arttığı görülmüştür. Çeltikte ise bazı sHsp transkriptlerinin, 41°C ısı stresi altında 5 dakika gibi kısa bir sürede artmaya başladığı tespit edilmiştir (Cao vd., 2012). Bu çalışmalarla karşılaştırıldığında çalışmamızdaki Hsp ailelerinin ifade seviyelerindeki artışın normal bir artış olduğu anlaşılmaktadır.

Bu çalışmadan yola çıkarak karpuz bitkisi genomundaki *Hsp* genleri ile kuraklık-sıcaklık stresi arasında bir ilişki olduğu tespit edilmiştir. Bu ilişki yapılan

biyoinformatik analizlerle de desteklenmektedir. İfade seviyelerindeki değişim göz önüne alınarak söz konusu genlerin fonksiyonlarının daha iyi anlaşılabilceği düşünölmektedir. Sonuçların tümü ve dünyadaki artan iklim değişikliği göz önüne alındığında bu çalışma, ileride kuraklık ve sıcaklık streslerine yüksek toleranslı karpuz bitkilerinin geliştirilmesi için ilk adım olabilir. Bunun yanı sıra ileride yapılacak olan diğer çalışmalar için de önemli literatür bilgisi içermektedir.



KAYNAKLAR

- Ahuja, I., de Vos, R.C.H., Bones, A.M. & Hall, R.D., (2010). Plant molecular stress responses face climate change. *Trends in Plant Science*, 15(12), pp.664-74.
- Akashi, K., Yoshida, K., Kuwano, M., Kajikawa, M., Yoshimura, K., Hoshiyasu, S., Inagaki, N., Yokota, A., (2011). Dynamic changes in the leaf proteome of a C₃ xerophyte, *Citrullus lanatus* (wild watermelon), in response to water deficit. *Planta*, 233, pp.1341-4.
- Almoguera, C., Coca, M.A., Jordano, J., (1993). Tissue-specific expression of sunflower heat shock proteins in response to water stress. *The Plant Journal*, 4(6), pp.947-58.
- Al-Whaibi, M.H., (2011). Plant heat-shock proteins: A mini review. *Journal of King Saud University-Science*, 23, pp.139-50.
- Büyük, İ., Soydam-Aydın, S., Aras, S., (2012). Bitkilerin stres koşullarına verdiği moleküler cevaplar. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 69(2), pp.97-110.
- Bailey, T.L., Johnson, J., Grant, C.E., Noble, W.S., (2015). The MEME Suite. *Nucleic Acids Res.*, 43, pp.W39-49.
- Berman, H.M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, TN., Weissing, H., Shindyalov, IN., Bourne, PE., (2000). The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research*, 28(1), pp.235-42.
- Bitá, C.E. ve Gerats, T., (2013). Plant tolerance to high temperature in a changing environment: scientific fundamentals and production of heat stress-tolerant crops. *Front Plant Sci.*, 4(273), pp.1-18.
- Buchner, J., (1999). Hsp90 & Co. - a holding for folding. *Trends Biochem Sci.*, 24(4), pp.136-41.
- Budak, H. ve Akpınar, A.B., (2015). Plant miRNAs: biogenesis, organization and origins. *Functional and Integrative Genomics*, 15(5), pp.523-31.
- Bukau, B., Weissman, J., Horwich, A., (2006). Molecular Chaperones and Protein Quality Control. *Cell*, 125(3), pp.443-51.
- Cao, F., Cheng, H., Cheng, S., Li, L., Xu, F., Yu, W., Yuan, H., (2012). Expression of Selected Ginkgo biloba Heat Shock Protein Genes After Cold Treatment Could Be Induced by Other Abiotic Stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(5), pp.5768-88.
- Chiba, S., Yokota, S., Yonekura, K., Tanaka, S., Furuyama, H., Fujii, N., Matsumoto, H., (2006). Autoantibodies against HSP70 family proteins were detected in the cerebrospinal fluid from patients with multiple sclerosis. *Journal of the Neurological Science*, 241(1-2), pp.39-43.

- Conesa, A. ve Götz, S., (2008). Blast2GO: A Comprehensive Suite for Functional Analysis in Plant Genomics. *International Journal of Plant Genomics*, 2008, p.12.
- Çarpıcı Budaklı, E. ve Erdel, B., (2015). Bazı yonca çeşitlerinde (*Medicago sativa* L.) kuraklık stresinin çimlenme özellikleri üzerine etkisi. *Derim*, 32(2), pp.201-10.
- Çelik Altunoğlu, Y., (2016). Isı Şoku Protein Ailesinden Hsp70 Genlerinin Okaliptüs Genomunda Saptanması ve Karakterizasyonu. *Kastamonu Üniversitesi, Orman Fakültesi Dergisi*, 16(2), pp.497-509.
- Çelik Altunoğlu, Y, Baloglu, MC., Baloglu, P., Yer, EN., Kara, S., (2017). Genome-wide identification and comparative expression analysis of LEA genes in watermelon and melon genomes. *Physiol Mol Biol Plants*, 23(1), pp.5-21.
- Dai, X., Zhao, P.X., (2011). psRNATarget: a plant small RNA target analysis server. *Nucleic Acids Research*, 39, pp.W155-59.
- Deepak, SA., Kottapalli, KR., Rakwal, R., Oros, G., Rangappa, KS., Iwahashi, H., Masuo, Y., Agrawal, GK., (2007). Real-Time PCR: Revolutionizing Detection and Expression Analysis of Genes. *Current Genomics*, 8, pp.234-51.
- D'Silva, P., (2012). *Heat Shock Protein Information Resource User Guide*.
- Fahad, S., Bajwa, A., Nazir, U., Anjum, SA., Farooq, A., Zohaib, A., Sadia, S., Nasim, W., Adkins, S., (2017). Crop Production under Drought and Heat Stress: Plant Responses and Management Options. *Front. Plant Sci.*, 8(1147).
- Georgii, E., (2017). Relationships between drought, heat and air humidity responses revealed by transcriptome-metabolome co-analysis. *BMC Plant Biology*, 17(120), pp.1-23.
- Guleria, P., Kumar Yadav, S., (2011). Identification of miR414 and Expression Analysis of Conserved miRNAs from *Stevia rebaudiana*. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 9(6), pp.211-7.
- Guo, S, Zhang, J., Sun, H., Salse, J., Lucas, WJ., Zhang, H., vd., (2013). The draft genome of watermelon (*Citrullus lanatus*) and resequencing of 20 diverse accessions. *Nature Genetics*, 45(1), pp.51-58.
- Guo, S., Zhang, J. & Xu, Y., (2013). The draft genome of watermelon (*Citrullus lanatus*) and resequencing of 20 diverse accessions. *Nature Genetics*, 45, pp.51-58.
- Hartl, U.F. & Hartl, M.H., (2002). Molecular Chaperones in the Cytosol: from Nascent Chain to Folded Protein. *Science*, 295(5561), pp.1852-58.
- Haslbeck, M., Franzmann, T., Weinfurtnner, D. & Burchner, J., (2005). Some like it hot: the structure and function of small heat-shock proteins. *Nature Structural & Molecular Biology*, 12, pp.842-46.

- Henle, K.J., Jethmalani, S.M. & Nagle, W., (1998). Stress proteins and glycoproteins (Review). *International Journal of Molecular Medicine*, 1, pp.25-57.
- Hill, J.E. & Hemmingsen, S.M., (2001). Arabidopsis thaliana type I and II chaperonins. *Cell Stress Chaperones*, 6(3), pp.190-200.
- Hoagland, D.R. & Arnon, D.I., (1950). *Cover of: The water-culture method for growing plants without soil*. College of Agriculture, University of California in Berkeley, Calif.
- Hong, S.-W. & Vierling, E., (2001). Hsp101 is necessary for heat tolerance but dispensable for development and germination in the absence of stress. *The Plant Journal*, 27(1), pp.25-35.
- Horwich, A.L., Fenton, W.A., Chapman, E. & Farr, G.W., (2007). Two Families of Chaperonin: Physiology and Mechanism. *Annu Rev Cell Dev Biol.*, 23, pp.115-45.
- Huh, Y.C., Choi, H.S., Solmaz, I., Sari, N., Kim, S., (2014). Morphological characterization of Korean and Turkish watermelon germplasm. 41(4), pp.309-14.
- Hu, B., Jin, J., Gao, A.Y., Zhang, H., Luo, J., Gao, G., (2015). GSDB 2.0: an upgraded gene feature visualization server. *Oxford Journal-Bioinformatics*, 31(8), pp.1296-97.
- Jones, S.G., Grocock, R.J., van Dongen, S., Bateman, A., Enright, A.J., (2006). miRBase: microRNA sequences, targets and gene nomenclature. *Nucleic Acids Research*, 34, pp.D140-44.
- Kampinga, H.H. & Craig, E.A., (2010). The HSP70 chaperone machinery: J proteins as drivers of functional specificity. *NATURE Reviews - Molecular cell Biology*, 11(8), pp.579-92.
- Kara, S., (2016). *LEA (Late Embryogenesis Abundant) Genlerinin Kavun (Cucumis Melo L.) Ve Karpuz (Citrullus Lanatus) Türlerinde Tanımlanması, Biyoinformatik Analizleri Ve Kuraklık Stresi Altında Gen İfade Analizlerinin İncelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi. Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Karipçin, Z.M., (2009). *Yerli Ve Yabancı Karpuz Genotiplerinde Kuraklığa Toleransın Belirlenmesi*. Adana: Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Kaya, C., Higgs, D., Kirnak, H. & Tas, I., (2003). Mycorrhizal colonisation improves fruit yield and water use efficiency in watermelon (*Citrullus lanatus* Thunb.) grown under well-watered and water-stressed conditions. *Plant and Soil*, 253, pp.287-92.

- Kelley, L.A., Mezulis, S., Yates, C.M., Wass, M.N., Sternberg, M.J., (2015). The Phyre2 web portal for protein modelling, prediction and analysis. *Nat. Protoc.*, 10(6), pp.845-58.
- Kim, K.K., Kim, R. & Kim, S.H., (1998). Crystal structure of a small heat-shock protein. *Nature*, 394, pp.595-99.
- Kosova, K., Vitamvas, P., Urban, M.O., Prasil, I.T., Renaut, J., (2018). Plant Abiotic Stress Proteomics: The Major Factors Determining Alterations in Cellular Proteome. *Front Plant Sci.*, 9(122).
- Krishna, P. & Gloor, G., (2001). The Hsp90 family of proteins in *Arabidopsis thaliana*. *Cell Stress Chaperones*, 6(3), pp.238-46.
- Krishna, P., Sacco, M., Cherutti, J.F. & Hill, S., (1995). Cold-Induced Accumulation of hsp90 Transcripts in *Brassica napus*. *Plant Physiol*, 107(3), pp.915-23.
- Kumar, R.R., Nagarajan, N.S., Arunraj, S.P., Devanjan, S., Rajun, V., Esthaki, V., (2012). HSPiR: a manually annotated heat shock protein information resource. *Bioinformatics*, 28(21,1), pp.2853-55.
- Kumar, S., Stecher, G. & Tamura, K., (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33(7,1), pp.1870-74.
- Laufen, T., Mayer, M., Beisel, C., Klostermeir, D., Mogk, A., Reinstein, J., Bukau, B., (1999). Mechanism of regulation of Hsp70 chaperones by DnaJ cochaperones. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96(10), pp.5452-57.
- Lin, B. vd., (2001). Genomic analysis of the Hsp70 superfamily in *Arabidopsis thaliana*. *Cell Stress Chaperones*, 6(3), pp.201-8.
- Livak, K. ve Schmittgen, T., (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*, 25(4), pp.402-8.
- Lopes-Caitar, V.S. et al., (2013). Genome-wide analysis of the Hsp 20 gene family in soybean: comprehensive sequence, genomic organization and expression profile analysis under abiotic and biotic stresses. *BMC Genomics*, 14(577).
- Lund, P.A., (2001). *Molecular chaperones in the cell*. Oxford: Oxford University Press.
- Lynch, M. & Conery, J.S., (2000). The evolutionary fate and consequences of duplicate genes. *Science*, 290(5494), pp.1151-5.
- MacFarlane, L.A. & Murphy, P.R., (2010). MicroRNA: Biogenesis, Function and Role in Cancer. *Current Genomics*, 11(7), pp.537-61.
- Martin, J., Horwich, A.L. & Harti, U.F., (1992). Prevention of protein denaturation under heat stress by the chaperonin Hsp60. *Science*, 258(5084), pp.995-8.

- Mayer, M., Brehmer, D., Gassler, C. & Bukau, B., (2001). Hsp70 chaperone machines. *Adv. Protein Chem.*, 59, pp.1-44.
- Milligan, B.G., (2003). Maximum-likelihood estimation of relatedness. *Genetics*, 163(3), pp.1153-67.
- Örs, S. & Ekinçi, M., (2015). Kuraklık stresi ve bitki fizyolojisi. *Derim*, 32(2), pp.237-50.
- Park, C.-J. & Seo, Y.-S., (2015). Heat Shock Proteins: A Review of the Molecular Chaperones for Plant Immunity. *The Plant Pathology Journal*, 31(4), pp.323-33.
- Polat, S., Şahin, N. & Özdemir, H., (2017). Farklı fide yetiştirme ortamlarının Crimson Sweet karpuz çeşidinde fide kalitesine. *Akademik Ziraat Dergisi*, 6, pp.47-50.
- Pratt, W.B. & Toft, D.O., (2003). Regulation of signaling protein function and trafficking by the hsp90/hsp70-based chaperone machinery. *Exp Biol Med (Maywood)*, 228(2), pp.111-33.
- Quevillon, E. et al., (2005). InterProScan: protein domains identifier. *Nucleic Acids Res.*, 33, pp.W116-20.
- Rajan, V.B.V. & D'Silva, P., (2009). Arabidopsis thaliana J-class heat shock proteins: cellular stress sensors. *Funct Integr Genomics*, 9, pp.433-46.
- Rousch, J.M., Bingham, S.E. & Sommerfeld, M.R., (2004). Protein expression during heat stress in thermo-intolerant and thermo-tolerant diatoms. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 306(2), pp.231-43.
- Sarkar, N.K., Kundnani, P. & Grover, A., (2013). Functional analysis of Hsp70 superfamily proteins of rice (*Oryza sativa*). *Cell Stress and Chaperones*, 18(4), pp.427-37.
- Scharf, K.D., Siddique, M. & Vierling, E., (2001). The expanding family of Arabidopsis thaliana small heat stress proteins and a new family of proteins containing α -crystallin domains (Acd proteins). *Cell Stress & Chaperones*, 6(3), pp.225-37.
- Solmaz, İ., Sari, N. & Aka-Kacar, Y., (2010). The genetic characterization of Turkish watermelon (*Citrullus lanatus*) accessions using RAPD markers. *Genet Resour. Crop Evol.*, 57, pp.763-71.
- Su, P.-H. & Li, H.-m., (2008). Arabidopsis Stromal 70-kD Heat Shock Proteins Are Essential for Plant Development and Important for Thermotolerance of Germinating Seeds 1[C][W][OA]. *Plant Physiology*, 146(3), pp.1231-41.
- Sung, D.-Y., Kaplan, F. & Guy, C.L., (2001). Plant Hsp70 molecular chaperones: Protein structure, gene family, expression and function. *Physiologia Plantarum*, 113, pp.443-51.

- Sun, Y. & MacRae, T.H., (2005). Small heat shock proteins: molecular structure and chaperone function. *Cell Mol. Life Sci.*, 62(21), pp.2460-76.
- Sun, W., Montagu, M.V. & Verbruggen, N., (2002). Small heat shock proteins and stress tolerance in plants. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1577(1), pp.1-9.
- Suyama, M., Torrents, D. & Bork, P., (2006). PAL2NAL: robust conversion of protein sequence alignments into the corresponding codon alignments. *Nucleic Acids Research*, 34, pp.W609-12.
- Tiryaki, İ., (2016). Yoncada (Medicago sativa L.) Kuraklık Stresi ve Tolerantlık Mekanizması. *KSÜ Doğa Bil. Dergisi*, 19(3), pp.296-305.
- Tutar, L. ve Tutar, Y., (2010). Heat Shock Proteins; An Overview. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 11, pp.216-22.
- Ulusal, H., (2015). *Demir Eksikliği Anemisi Ve B Talasemi Minörde Isı Şok Proteinleri*. Yüksek Lisans Tezi. T.C. Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- URL-1 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/probe/docs/techpcr/> (Erişim Tarihi: 10.04.2018)
- URL-2 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/probe/docs/techqpcr/> (Erişim Tarihi: 11.04.2018)
- URL-3 <http://www.biosyn.com/tew/taqman-vs-sybr-green-chemistries.aspx> (Erişim Tarihi: 11.04.2018)
- URL-4 pdslab.biochem.iisc.ernet.in/hspir/chaperone.php (Erişim Tarihi: 11.04.2018)
- Valasek, M.A. ve Repa, J.J., (2005). The power of real-time PCR. *Advances in Physiology Education*, 29, pp.151-59.
- Walsh, P. vd., (2004). The J-protein family: modulating protein assembly, disassembly and translocation. *Embo Reports*, 5(6), pp.567-71.
- Wang, Y. et al., 2015. Tomato HsfA1a plays a critical role in plant drought tolerance by activating ATG genes and inducing autophagy. *Autophagy*, 11(11), pp.2033-47.
- Wang, Q.L., Chen, J.H., He, N.Y. & Guo, F.Q., (2018). Metabolic Reprogramming in Chloroplasts under Heat Stress in Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(849). doi:10.3390/ijms19030849.
- Wang, W., Vinocur, B., Shoseyov, O. & Altman, A., (2004). Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. *Trends in Plant Science*, 9(5), pp.244-52.
- Wang, K., Zhang, X., Goatly, M. & Ervin, E., (2014). Heat Shock Proteins in Relation to Heat Stress Tolerance of Creeping Bentgrass at Different N Levels. *Plos One*, 9(7), p.e102914.

- Whitley, D., Goldberg, S.P. & Jordan, W.D., (1999). Heat shock proteins: A review of the molecular chaperones. *Journal of Vascular Surgery*, 29(4), pp.748-51.
- Whitley, D., Goldberg, S.P. & Jordan, W.D., (1999). Heat shock proteins: A review of the molecular chaperones. *Journal of Vascular Surgery*, 29(4), pp.748-51.
- Yang, J., Zhang, N., Ma, C., Qu, Y., Si, H., Wang, D., (2013). Prediction and verification of microRNAs related to proline accumulation under drought stress in potato. *Elsevier*, 46, pp.48-54.
- Yer, E.N., Baloglu, M.C., Çelik Altunoğlu, Y. & Ayan, S., (2016). Identification and bioinformatics analyzes of heat shock protein 70 genes (Hsp 70) in Fagaceae family. *Biological Diversity and Conservation*, 9(2), pp.84-91.
- Yer, E.N., (2016). Drought-Responsive Hsp70 Gene Analysis in Populus at Genome-Wide Level. *Plant Molecular Biology Reporter*, 34(2), pp.483-500.
- Yer, E.N., (2017). *Isı şoku Protein Genlerinin (HSP) Bazı Populus Taksonlarında Fonksiyonel Genom Analizi ve Abiyotik Stres Koşullarında HSP Genlerinin İfade Seviyelerinin Belirlenmesi*. Doktora Tezi. T.C. Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Yin, J.L. et al., (2001). Real-time reverse transcriptase–polymerase chain reaction (RT–PCR) for measurement of cytokine and growth factor mRNA expression with fluorogenic probes or SYBR Green I. *Immunology and Cell Biology*, 79, pp.213-21.
- Young, J.C., Moarefi, I. & Hartl, U., (2001). Hsp90: a specialized but essential protein-folding tool. *The Journal of Cell Biolog*, 154(2), pp.267-73.
- Zhang, J. et al., (2015). Hsf and Hsp gene families in Populus: genome-wide identification, organization and correlated expression during development and in stress responses. *BMC Genomics*, 16(1), p.181.
- Zhang, M., Shen, Z., Meng, G., Lu, Y., Wang, Y., (2017). Genome-wide analysis of the Brachypodium distachyon (L.) P. Beauv. Hsp90 gene family reveals molecular evolution and expression profiling under drought and salt stresses. *Plos one*, 12(12), p.e0189187.
- Zhao, P. et al., (2018). Genome-wide analysis of the potato Hsp20 gene family: identification, genomic organization and expression profiles in response to heat stress. *BMC Genomics*, 19(1).
- Zhu, J.K., (2016). Abiotic stress signaling and responses in plants. *Cell*, 167(2), pp.313-24.
- Zorzi, E. & Bonvini, P., (2011). Inducible Hsp70 in the Regulation of Cancer Cell Survival: Analysis of Chaperone Induction, Expression and Activity. *Cancers*, 3(4), pp.3921-56.

EKLER

EK-1 HOAGLAND ÇÖZELTİSİNİN KİMYASAL İÇERİĞİ

EK-2 10X TAE TAMPONUNUN İÇERİĞİ

EK-3 KARPUZDA (*Citrullus lanatus*) TANIMLANAN *sHsp* GENLERİ

EK-4 KARPUZDA (*Citrullus lanatus*) TANIMLANAN *Hsp40* GENLERİ

EK-5 KARPUZDA (*Citrullus lanatus*) TANIMLANAN *Hsp60* GENLERİ

EK-6 KARPUZDA (*Citrullus lanatus*) TANIMLANAN *Hsp70* GENLERİ

EK-7 KARPUZDA (*Citrullus lanatus*) TANIMLANAN *Hsp90* GENLERİ

EK-8 KARPUZDA (*Citrullus lanatus*) TANIMLANAN *Hsp100* GENLERİ

EK-9 *ClasHsp* GENLERİNİN MOTİF KOMPOZİSYONLARI

EK-10 *ClaHsp40* GENLERİNİN MOTİF KOMPOZİSYONLARI

EK-11 *ClasHsp60* GENLERİNİN MOTİF KOMPOZİSYONLARI

EK-12 *ClasHsp70* GENLERİNİN MOTİF KOMPOZİSYONLARI

EK-13 *ClasHsp90* GENLERİNİN MOTİF KOMPOZİSYONLARI

EK-14 *ClasHsp100* GENLERİNİN MOTİF KOMPOZİSYONLARI

EK-15 *ClasHsp* GENLERİNİN EKZON-İNTRON YAPISI

EK-16 *ClaHsp40* GENLERİNİN EKZON-İNTRON YAPISI

EK-17 *ClaHsp60* GENLERİNİN EKZON-İNTRON YAPISI

EK-18 *ClaHsp70* GENLERİNİN EKZON-İNTRON YAPISI

EK-19 *ClaHsp90* GENLERİNİN EKZON-İNTRON YAPISI

EK-20 *ClaHsp100* GENLERİNİN EKZON-İNTRON YAPISI

EK-21 *CLASHSP* GENLERİNİN ARABİDOPSİS, SOYA, ÇELTİK, KAVAK, ÜZÜM VE MISIR İLE ORTOLOG İLİŞKİSİ

EK-22 *CLAHSP70* GENLERİNİN ARABİDOPSİS, SOYA, ÇELTİK, KAVAK, ÜZÜM VE MISIR İLE ORTOLOG İLİŞKİSİ

EK-23 *CLAHSP90* GENLERİNİN ARABİDOPSİS, SOYA, ÇELTİK, KAVAK, ÜZÜM VE MISIR İLE ORTOLOG İLİŞKİSİ

EK-1 Hoagland çözeltisinin kimyasal içeriği

Kimyasal içerik	mg/L
Amonyum fosfat	115,03
Borik asit	2,86
Kalsiyum nitrat	656,4
Bakır Sulfat, Pentahidrat	0,08
EDTA, Disodyum Salt	3,35
Demir Sulfat, Heptahidrat	2,50
Magnezyum Sulfat, Anhydrous	240,76
Manganez klorür, Tetrahidrat	1,81
Molibden trioksit	0,016
Potasyum nitrat	606,6
Çinko Sülfat, Heptahidrat	0,22

(Kaynak: <http://phytotechlab.com/index.php/hoagland-modified-basal-salt-mixture.html>)

EK-2 10X TAE Tamponunun içeriği

Bileşenler	Miktar
Tris base	48,5 gr
800ml distile su ile iyice çözünerek karıştırılır.	
Glasiyal Asedik asit 17.4M	11,4 ml
0.5M EDTA(pH 8)	20 ml
Toplam 1000 ml oluncaya kadar distile su ilave edilmiştir.	

EK-3 Karpuzda (*Citrullus lanatus*) tanımlanan sHsp genleri

Gen Adları	Cucurbit Genomics Database Adı	Karpuz Genomundaki Fiziksel Pozisyonu			Protein Uzunluğu (aa)	pI	Moleküler Ağırlığı (Da)	Kararsızlık İndeksi	Kararsızlık Durumu
		Kromozom	Başlangıç Pozisyonu (bp)	Bitiş Pozisyonu (bp)					
ClasHsp-01	Cla000040	Scaffold	9,270,381	9,270,860	159	6,35	18085.49	56,71	Kararsız
ClasHsp-02	Cla000300	Scaffold	23,324,715	23,325,494	271	6,67	27198.98	43,28	Kararsız
ClasHsp-03	Cla009144	1	23,224,507	23,226,188	141	8,04	15919.31	62,73	Kararsız
ClasHsp-04	Cla016060	2	7,000,180	7,001,551	200	6,03	22952.58	49,97	Kararsız
ClasHsp-05	Cla019876	2	26,261,199	26,262,363	215	6,83	23135.38	43,95	Kararsız
ClasHsp-06	Cla019875	2	26,272,576	26,274,297	391	5,19	43717.27	40,79	Kararsız
ClasHsp-07	Cla003135	2	34,176,826	34,178,338	191	9,34	21760.91	53,46	Kararsız
ClasHsp-08	Cla008197	3	1,029,373	1,029,855	160	5,87	18216.56	59,63	Kararsız
ClasHsp-09	Cla008198	3	1,032,315	1,032,761	148	4,56	16527.54	66,93	Kararsız
ClasHsp-10	Cla019390	3	4,803,805	4,804,296	124	6,73	13723.87	68,58	Kararsız
ClasHsp-11	Cla011096	3	25,116,515	25,119,564	340	9,56	37546.43	65,79	Kararsız
ClasHsp-12	Cla012124	4	15,868,725	15,869,738	211	6,02	23583.50	60,46	Kararsız
ClasHsp-13	Cla018155	4	19,222,596	19,223,027	143	6,76	15956.32	35,36	Kararlı
ClasHsp-14	Cla018648	4	23,960,367	23,960,962	169	9,3	18855.71	40,09	Kararsız
ClasHsp-15	Cla001268	5	15,080,571	15,082,035	142	6,16	16052.52	46,07	Kararsız
ClasHsp-16	Cla020854	5	26,216,760	26,217,230	156	5,93	17419.17	30,9	Kararlı
ClasHsp-17	Cla020853	5	26,219,145	26,219,618	157	6,11	17553.10	39,58	Kararlı
ClasHsp-18	Cla020460	5	29,674,936	29,676,601	369	5,83	39780.76	51,2	Kararsız
ClasHsp-19	Cla009996	5	32,904,720	32,905,521	234	9,4	26318.98	34,95	Kararlı
ClasHsp-20	Cla003963	7	2,977,251	2,977,627	97	9,63	11127.89	49,6	Kararsız
ClasHsp-21	Cla003964	7	2,983,675	2,984,154	159	6,35	18085.49	56,71	Kararsız
ClasHsp-22	Cla003965	7	2,984,907	2,985,371	154	6,33	17585.92	62,05	Kararsız
ClasHsp-23	Cla003968	7	3,002,489	3,002,968	159	5,55	18021.29	64,97	Kararsız
ClasHsp-24	Cla004312	7	4,133,759	4,134,238	159	5,84	18107.62	62,58	Kararsız
ClasHsp-25	Cla004313	7	4,135,587	4,135,963	97	9,63	11127.89	49,6	Kararsız
ClasHsp-26	Cla004314	7	4,142,011	4,142,490	159	6,35	18085.49	56,71	Kararsız
ClasHsp-27	Cla004315	7	4,143,243	4,143,707	154	6,33	17585.92	62,05	Kararsız
ClasHsp-28	Cla012545	7	23,980,441	23,981,813	160	6,75	17570.07	46,27	Kararsız
ClasHsp-29	Cla012714	7	25,610,453	25,614,281	410	6,05	46302.71	56,93	Kararsız
ClasHsp-30	Cla012373	8	2,725,497	2,726,063	188	5,76	21572.84	59,18	Kararsız
ClasHsp-31	Cla021916	8	18,551,288	18,551,871	144	9,1	15336.81	38,61	Kararlı
ClasHsp-32	Cla016397	9	9,247,187	9,248,627	447	5,22	50275.17	37,23	Kararlı
ClasHsp-33	Cla005544	9	34,190,341	34,192,447	254	7,00	27907.46	57,83	Kararsız
ClasHsp-34	Cla008962	10	2,150,927	2,157,797	509	5,21	56238.70	43,92	Kararsız
ClasHsp-35	Cla005645	10	2,992,879	2,993,921	211	5,66	23508.43	58,93	Kararsız
ClasHsp-36	Cla005275	10	6,354,500	6,358,176	200	4,73	23096.61	40	Kararsız
ClasHsp-37	Cla004568	10	9,893,375	9,893,947	190	5,75	21368.51	41,49	Kararsız
ClasHsp-38	Cla017945	10	27,430,544	27,431,125	193	7,76	22849.67	44,46	Kararsız
ClasHsp-39	Cla006565	11	1,410,108	1,410,584	158	5,42	18131.67	62,89	Kararsız

EK-4 Karpuzda (*Citrullus lanatus*) tanımlanan Hsp40 genleri

Gen Adları	Cucurbit Genomics Database Adı	Karpuz Genomundaki Fiziksel Pozisyonu			Protein Uzunluğu (aa)	pI	Moleküler Ağırlığı (Da)	Kararsızlık indeksi	Kararsızlık Durumu
		Kromozom	Başlangıç Pozisyonu (bp)	Bitiş Pozisyonu (bp)					
ClaHsp40-01	Cla000525	Scaffold	12,702,812	12,704,605	60	6,11	6586.89	45.18	Kararsız
ClaHsp40-02	Cla000341	Scaffold	14,601,215	14,601,763	182	9,63	20474.14	41.00	Kararsız
ClaHsp40-03	Cla004903	1	328,502	330,823	773	8,69	87244.90	35.57	Kararlı
ClaHsp40-04	Cla003885	1	5,898,212	5,901,447	344	5,73	38366.24	35.87	Kararlı
ClaHsp40-05	Cla003912	1	6,281,704	6,282,246	112	5,59	12950.38	71.75	Kararsız
ClaHsp40-06	Cla008333	1	10,303,770	10,306,317	346	9,19	38825.07	39.23	Kararlı
ClaHsp40-07	Cla014006	1	27,284,967	27,290,064	485	6,23	54812.78	49.94	Kararsız
ClaHsp40-08	Cla014224	1	29,235,901	29,237,885	329	9,69	36875.66	41.02	Kararsız
ClaHsp40-09	Cla009642	1	31,772,323	31,773,679	347	9,13	38017.44	35.88	Kararlı
ClaHsp40-10	Cla009796	1	32,984,895	32,987,945	475	5,02	53450.31	64.47	Kararsız
ClaHsp40-11	Cla007789	2	1,348,279	1,351,720	245	9,03	27838.76	44.86	Kararsız
ClaHsp40-12	Cla015639	2	2,282,024	2,283,964	339	8,94	37625.73	35.23	Kararlı
ClaHsp40-13	Cla015685	2	2,587,838	2,589,967	709	8,78	79020.00	34.33	Kararlı
ClaHsp40-14	Cla015807	2	3,748,045	3,749,348	362	9,35	40672.55	53.19	Kararsız
ClaHsp40-15	Cla003734	2	13,579,180	13,580,488	344	8,77	38082.20	35.00	Kararlı
ClaHsp40-16	Cla020300	2	20,952,402	20,952,851	149	8,88	16394.43	45.69	Kararsız
ClaHsp40-17	Cla020055	2	24,379,770	24,381,436	465	9,09	51461.96	37.32	Kararlı
ClaHsp40-18	Cla019951	2	25,469,460	25,472,351	175	5,13	19678.90	58.26	Kararsız
ClaHsp40-19	Cla019893	2	26,139,971	26,141,989	672	6,08	75312.21	32.16	Kararlı
ClaHsp40-20	Cla019892	2	26,142,793	26,144,963	263	6,01	29547.33	53.21	Kararsız
ClaHsp40-21	Cla019819	2	26,912,076	26,917,065	607	9,40	68112.09	47.63	Kararsız
ClaHsp40-22	Cla013324	2	30,333,509	30,336,511	289	5,95	33323.00	55.08	Kararsız
ClaHsp40-23	Cla008620	2	32,482,342	32,487,906	980	6,21	108542.45	53.14	Kararsız
ClaHsp40-24	Cla008557	2	33,154,765	33,164,198	1317	5,65	145361.75	49.92	Kararsız
ClaHsp40-25	Cla008174	3	822,126	827,821	389	9,78	42988.76	23.72	Kararlı
ClaHsp40-26	Cla019404	3	4,923,638	4,926,557	232	8,99	26612.65	42.16	Kararsız
ClaHsp40-27	Cla019553	3	6,910,287	6,913,034	490	4,79	55731.20	60.09	Kararsız
ClaHsp40-28	Cla001769	3	21,109,237	21,113,028	192	9,63	23212.68	63.25	Kararsız
ClaHsp40-29	Cla001778	3	21,327,683	21,331,742	386	5,56	43110.76	46.17	Kararsız
ClaHsp40-30	Cla011306	3	27,453,076	27,455,661	861	9,04	96659.57	39.12	Kararlı
ClaHsp40-31	Cla008022	4	1,332,083	1,335,918	831	7,66	93234.24	35.01	Kararlı
ClaHsp40-32	Cla008073	4	2,717,158	2,726,746	711	5,56	78603.60	48.35	Kararsız
ClaHsp40-33	Cla011652	4	5,397,850	5,402,142	732	6,30	82527.02	44.21	Kararsız
ClaHsp40-34	Cla006834	4	9,777,541	9,787,963	1435	6,25	157680.00	45.63	Kararsız
ClaHsp40-35	Cla018270	4	20,351,775	20,353,466	112	10,27	12075.99	31.71	Kararlı
ClaHsp40-36	Cla018278	4	20,417,950	20,422,773	491	6,53	54125.72	37.81	Kararlı

EK-4'ün devamı,

ClaHsp40-37	Cla018612	4	23,743,761	23,745,689	642	8,39	72287.62	46.35	Kararsız
ClaHsp40-38	Cla021248	5	1,570,493	1,579,493	1222	6,55	135231.19	42.37	Kararsız
ClaHsp40-39	Cla021401	5	2,870,989	2,872,408	204	9,86	23343.26	81.57	Kararsız
ClaHsp40-40	Cla021766	5	6,005,115	6,006,333	267	9,39	31141.09	44.32	Kararsız
ClaHsp40-41	Cla006137	5	8,709,027	8,713,019	684	5,64	76690.95	47.95	Kararsız
ClaHsp40-42	Cla004244	5	9,121,364	9,123,913	849	6,97	94987.52	40.05	Kararsız
ClaHsp40-43	Cla013013	5	9,879,133	9,881,154	649	7,54	74320.35	59.35	Kararsız
ClaHsp40-44	Cla020945	5	25,264,860	25,266,888	382	8,11	42295.18	43.18	Kararsız
ClaHsp40-45	Cla020780	5	26,843,231	26,848,688	1461	4,91	163276.18	45.65	Kararsız
ClaHsp40-46	Cla020578	5	28,524,902	28,526,078	111	10,4 3	12014.81	38.03	Kararlı
ClaHsp40-47	Cla020473	5	29,572,527	29,574,712	413	6,17	46048.18	36.96	Kararlı
ClaHsp40-48	Cla020412	5	30,043,764	30,047,490	409	6,37	45429.02	36.23	Kararlı
ClaHsp40-49	Cla010143	5	31,732,603	31,734,344	315	9,20	35523.45	38.97	Kararlı
ClaHsp40-50	Cla009227	6	4,765,999	4,771,590	651	7,96	72374.09	47.19	Kararsız
ClaHsp40-51	Cla009299	6	5,493,788	5,494,846	352	8,54	40175.45	56.03	Kararsız
ClaHsp40-52	Cla009337	6	5,885,186	5,888,047	953	5,86	108483.43	47.01	Kararlı
ClaHsp40-53	Cla012317	6	18,386,390	18,402,439	2548	5,79	279446.46	48.17	Kararsız
ClaHsp40-54	Cla012254	6	19,602,168	19,603,250	360	8,58	40570.62	58.12	Kararsız
ClaHsp40-55	Cla012253	6	19,608,242	19,609,327	361	7,62	40727.52	51.00	Kararsız
ClaHsp40-56	Cla019059	6	24,746,495	24,747,508	333	8,89	38874.92	56.85	Kararsız
ClaHsp40-57	Cla019098	6	25,058,737	25,071,230	788	6,28	88738.55	47.77	Kararsız
ClaHsp40-58	Cla019280	6	26,655,713	26,658,226	837	8,90	93984.36	47.20	Kararsız
ClaHsp40-59	Cla002245	7	1,080,877	1,085,784	336	5,49	37445.02	57.51	Kararsız
ClaHsp40-60	Cla005991	7	2,024,023	2,025,822	599	5,43	67422.66	40.87	Kararsız
ClaHsp40-61	Cla012748	7	26,062,503	26,069,743	542	8,85	58730.41	43.21	Kararsız
ClaHsp40-62	Cla005417	7	27,921,573	27,928,482	563	8,53	64346.87	51.82	Kararsız
ClaHsp40-63	Cla010894	7	30,880,463	30,882,814	783	9,19	87986.88	47.02	Kararsız
ClaHsp40-64	Cla010895	7	30,896,532	30,899,265	748	8,21	84771.53	36.97	Kararlı
ClaHsp40-65	Cla003794	8	11,071,731	11,073,819	291	9,45	34323.08	51.44	Kararsız
ClaHsp40-66	Cla013911	8	15,053,035	15,058,760	571	6,70	62365.70	48.53	Kararsız
ClaHsp40-67	Cla013874	8	15,590,581	15,593,623	342	5,53	38465.25	47.37	Kararsız
ClaHsp40-68	Cla022068	8	20,081,587	20,083,675	291	9,38	34323.08	49.16	Kararsız
ClaHsp40-69	Cla022126	8	20,661,017	20,665,214	356	8,93	39200.34	51.04	Kararsız
ClaHsp40-70	Cla022553	8	24,565,743	24,566,282	179	4,61	19851.22	41.66	Kararsız
ClaHsp40-71	Cla022652	8	25,410,422	25,412,757	242	9,48	28838.80	48.03	Kararsız
ClaHsp40-72	Cla015522	9	794,53	797,309	203	5,20	22722.81	53.24	Kararsız
ClaHsp40-73	Cla015266	9	3,039,931	3,045,240	433	9,04	47137.29	33.79	Kararlı
ClaHsp40-74	Cla015130	9	4,102,047	4,104,397	584	9,16	64999.69	49.78	Kararsız
ClaHsp40-75	Cla015125	9	4,150,851	4,154,740	346	6,11	39057.40	41.25	Kararsız
ClaHsp40-76	Cla015106	9	4,308,171	4,309,665	105	9,05	11599.51	60.70	Kararsız
ClaHsp40-77	Cla014790	9	5,994,602	5,999,871	614	9,32	68794.55	51.38	Kararsız

EK-4'ün devamı,

ClaHsp40-78	Cla016352	9	9,627,880	9,635,484	598	8,80	68504.62	55.55	Kararsız
ClaHsp40-79	Cla012912	9	20,840,169	20,841,902	577	6,17	63290.71	57.26	Kararsız
ClaHsp40-80	Cla006400	9	24,772,247	24,772,741	164	10,0 2	18530.16	68.14	Kararsız
ClaHsp40-81	Cla010318	9	30,249,227	30,250,852	541	8,77	60748.36	43.70	Kararsız
ClaHsp40-82	Cla010421	9	31,444,806	31,447,336	299	8,89	34106.74	41.27	Kararsız
ClaHsp40-83	Cla005554	9	34,041,978	34,047,122	407	8,59	46003.23	39.42	Kararlı
ClaHsp40-84	Cla008841	10	1,111,339	1,113,282	647	8,85	75139.68	48.71	Kararsız
ClaHsp40-85	Cla005642	10	2,933,995	2,941,794	550	9,13	60979.66	40.26	Kararsız
ClaHsp40-86	Cla004448	10	4,628,376	4,628,771	131	9,85	15073.09	73.15	Kararsız
ClaHsp40-87	Cla004826	10	11,135,252	11,139,207	424	9,28	45694.03	44.32	Kararsız
ClaHsp40-88	Cla017371	10	16,657,261	16,660,944	566	8,78	62641.74	50.95	Kararsız
ClaHsp40-89	Cla017219	10	18,547,805	18,549,101	193	5,52	21643.10	57.52	Kararsız
ClaHsp40-90	Cla017171	10	19,185,234	19,186,840	315	8,68	35442.57	54.15	Kararsız
ClaHsp40-91	Cla017170	10	19,191,523	19,191,958	111	8,89	12196.92	42.80	Kararsız
ClaHsp40-92	Cla017514	10	23,501,402	23,503,987	282	7,60	32538.60	51.77	Kararsız
ClaHsp40-93	Cla017546	10	23,806,571	23,809,917	193	9,30	22268.97	51.22	Kararsız
ClaHsp40-94	Cla017603	10	24,411,654	24,414,684	275	5,46	31286.19	49.27	Kararsız
ClaHsp40-95	Cla017991	10	27,784,516	27,786,950	342	9,19	38291.85	41.91	Kararsız
ClaHsp40-96	Cla018008	10	27,938,530	27,941,710	539	9,13	58986.28	39.68	Kararlı
ClaHsp40-97	Cla018044	10	28,212,250	28,213,923	557	7,54	63188.72	45.08	Kararsız
ClaHsp40-98	Cla011953	11	4,348,332	4,349,925	234	5,54	27067.30	48.25	Kararsız
ClaHsp40-99	Cla023047	11	16,822,811	16,824,940	136	4,77	16092.80	41.36	Kararsız
ClaHsp40-100	Cla023053	11	16,891,161	16,892,198	345	8,79	38341.23	48.63	Kararsız
ClaHsp40-101	Cla016582	11	22,850,510	22,853,693	310	5,79	35079.01	41.19	Kararsız

EK-5 Karpuzda (*Citrullus lanatus*) tanımlanan Hsp60 genleri

Genin Adı	Cucurbit Genomics Database Adı	Citrullus Genomundaki Fiziksel Pozisyonu			Protein Uzunluğu (aa)	pI	Moleküler Ağırlığı (Da)	Kararsızlık İndeksi	Kararsızlık Durumu
		Kromozom	Başlangıç Pozisyonu (bp)	Bitiş Pozisyonu (bp)					
ClaHsp60-01	Cla004608	1	25,312,321	25,317,492	585	8,04	62003.16	27,55	Kararlı
ClaHsp60-02	Cla008720	2	31,595,169	31,598,518	583	5,11	61624.60	31,37	Kararlı
ClaHsp60-03	Cla002528	3	17,719,292	17,731,257	714	5,25	79156.44	54,7	Kararsız
ClaHsp60-04	Cla011080	3	24,951,573	24,957,536	522	6,5	56247.30	36,34	Kararlı
ClaHsp60-05	Cla011114	3	25,335,997	25,339,852	608	5,86	64651.02	31,18	Kararlı
ClaHsp60-06	Cla018471	4	22,398,478	22,400,079	533	7,6	57676.11	35,87	Kararlı
ClaHsp60-07	Cla021376	5	2,652,428	2,655,101	140	8,58	14892.36	35,97	Kararlı
ClaHsp60-08	Cla020333	5	30,759,782	30,764,585	622	9,08	67704.66	34,04	Kararlı

EK-5'in devamı,

ClaHsp60-09	Cla007006	6	778,631	781,551	133	8,91	14492.87	23,68	Kararlı
ClaHsp60-10	Cla007630	6	8,578,296	8,582,549	575	5,84	61102.44	25,38	Kararlı
ClaHsp60-11	Cla018694	6	21,062,408	21,065,969	478	5,37	52334.36	36,32	Kararlı
ClaHsp60-12	Cla001947	7	13,449,479	13,457,863	1741	5,86	195622.62	52,65	Kararsız
ClaHsp60-13	Cla022726	8	26,027,284	26,032,395	535	5,45	59210.24	41,97	Kararsız
ClaHsp60-14	Cla015579	9	279,478	284,884	557	5,49	59389.32	23,26	Kararlı
ClaHsp60-15	Cla015508	9	927,997	937,050	1720	5,22	192143.35	51,19	Kararsız
ClaHsp60-16	Cla014992	9	8,335,038	8,340,740	575	5,61	61409.70	29,84	Kararlı
ClaHsp60-17	Cla017298	10	17,682,624	17,693,734	522	5,65	56886.64	31,85	Kararlı
ClaHsp60-18	Cla017173	10	19,159,956	19,172,504	545	5,42	58744.29	39,29	Kararlı
ClaHsp60-19	Cla004158	11	6,762,540	6,770,205	376	8,82	41177.07	35,16	Kararlı
ClaHsp60-20	Cla004159	11	6,772,470	6,773,770	156	5,01	16965.29	34,22	Kararlı
ClaHsp60-21	Cla004160	11	6,779,566	6,779,820	57	4,5	6352.29	38,28	Kararlı
ClaHsp60-22	Cla016450	11	21,473,162	21,478,932	535	6,35	59121.15	32,14	Kararlı
ClaHsp60-23	Cla016843	11	25,384,754	25,389,657	527	5,77	57207.15	31,64	Kararlı

EK-6 Karpuzda (*Citrullus lanatus*) tanımlanan Hsp70 genleri

Gen Adı	Cucurbit Genomics Database Adı	Karpuz Genomundaki Fiziksel Pozisyonu			Protein uzunluğu (aa)	pI	Moleküler ağırlığı (Da)	Kararsızlık indeksi	Kararsızlık durumu
		Kromozom	Başlangıç pozisyonu (bp)	Bitiş pozisyonu (bp)					
ClaHsp70-01	Cla000274	Scaffold	10,497,482	10,502,745	777	5,74	87157.32	45,59	Kararlı
ClaHsp70-02	Cla011362	1	1,632,932	1,636,169	676	5,17	74732.78	29,41	Kararlı
ClaHsp70-03	Cla018221	4	19,910,945	19,913,600	582	5,07	63519.67	32,41	Kararlı
ClaHsp70-04	Cla021632	5	4,796,678	4,798,393	571	5,55	62065.52	36,61	Kararlı
ClaHsp70-05	Cla000858	6	17,195,853	17,199,671	691	5,22	74001.51	32,83	Kararlı
ClaHsp70-06	Cla015431	9	1,588,208	1,592,393	816	5,32	89273.09	40,52	Kararsız
ClaHsp70-07	Cla016401	9	9,205,839	9,210,321	677	4,9	72943.12	30,05	Kararlı
ClaHsp70-08	Cla004677	9	32,032,818	32,035,243	584	5,04	63756.02	32,13	Kararlı
ClaHsp70-09	Cla004683	9	32,070,240	32,072,596	581	5	63534.61	34,13	Kararlı
ClaHsp70-10	Cla006484	10	14,013,839	14,017,244	680	5,89	73104.91	40,96	Kararsız
ClaHsp70-11	Cla005777	11	11,769,390	11,771,609	644	5,15	70922.71	36,11	Kararlı
ClaHsp70-12	Cla023261	11	19,055,471	19,064,983	898	5,25	100054.81	44,18	Kararsız

EK-7 Karpuzda (*Citrullus lanatus*) tanımlanan Hsp90 genleri

Gen Adı	Cucurbit Genomic Adı	Karpuz Genomundaki Fiziksel Pozisyonu			Protein uzunluğu (aa)	pI	Moleküler ağırlığı (Da)	Kararsızlık indeksi	Kararsılık durumu
		Kromozom	Başlangıç Pozisyonu (bp)	Bitiş Pozisyonu (bp)					
ClaHsp90-01	Cla005871	1	7,733,158	7,740,430	789	4,89	89562.03	43.38	Kararsız
ClaHsp90-02	Cla001404	2	13,925,488	13,933,498	725	5,47	82408.34	39.61	Kararlı
ClaHsp90-03	Cla005206	3	28,082,412	28,084,959	699	5,01	80042.19	34.98	Kararlı
ClaHsp90-04	Cla005204	3	28,093,855	28,096,402	699	5,01	80042.19	34.98	Kararlı
ClaHsp90-05	Cla005202	3	28,111,861	28,114,370	699	5,01	80042.19	34.69	Kararlı
ClaHsp90-06	Cla022413	8	23,410,972	23,415,825	811	4,91	92837.39	31.63	Kararlı

EK-8 Karpuzda (*Citrullus lanatus*) tanımlanan Hsp100 genleri

Gen Adı	Cucurbit Genomic Adı	Karpuz genomundaki fiziksel pozisyonu			Protein Uzunluğu (aa)	pI	Moleküler Ağırlığı (Da)	Kararsızlık indeksi	Kararsızlık durumu
		Kromozom	Başlangıç Pozisyonu (bp)	Bitiş Pozisyonu (bp)					
ClaHsp100-01	Cla000354	Scaffold	18,340,631	18,354,636	603	6,73	67552.97	41.18	Kararsız
ClaHsp100-02	Cla000887	Scaffold	20,939,287	20,945,056	884	9,40	100506.25	45.77	Kararsız
ClaHsp100-03	Cla004874	1	52,676	55,231	414	6,25	46232.87	44.67	Kararsız
ClaHsp100-04	Cla004875	1	57,267	58,703	478	9,05	54744.83	56.65	Kararsız
ClaHsp100-05	Cla004905	1	340,927	349,305	830	5,59	90936.46	53.79	Kararsız
ClaHsp100-06	Cla004931	1	572,942	579,316	873	5,53	98392.40	46.67	Kararsız
ClaHsp100-07	Cla008438	1	9,329,156	9,340,347	855	5,94	95864.45	42.76	Kararsız
ClaHsp100-08	Cla008328	1	10,359,723	10,361,306	527	8,85	61278.98	46.07	Kararsız
ClaHsp100-09	Cla008327	1	10,388,966	10,390,483	505	7,21	57281.51	34.64	Kararlı
ClaHsp100-10	Cla008326	1	10,393,165	10,394,749	505			38.69	Kararlı
ClaHsp100-11	Cla009035	1	20,548,784	20,559,721	745	5,84	81358.26	29.37	Kararlı
ClaHsp100-12	Cla009177	1	23,847,677	23,851,608	313	6	33796.94	44.83	Kararsız
ClaHsp100-13	Cla014216	1	29,181,083	29,184,773	626	9,12	69735.26	48.32	Kararsız
ClaHsp100-14	Cla014237	1	29,335,311	29,336,783	490	5,52	55692.43	50.51	Kararsız
ClaHsp100-15	Cla014238	1	29,339,471	29,340,955	494	6,73	56354.33	47.10	Kararsız
ClaHsp100-16	Cla014239	1	29,343,376	29,345,052	516	5,53	59212.96	54.73	Kararsız
ClaHsp100-17	Cla014240	1	29,347,246	29,348,770	474	8,47	54974.85	59.93	Kararsız
ClaHsp100-18	Cla014241	1	29,350,560	29,351,497	283	5,23	31960.67	47.72	Kararsız
ClaHsp100-19	Cla014243	1	29,359,416	29,360,922	475	5,35	54455.94	44.26	Kararsız
ClaHsp100-20	Cla014422	1	30,654,651	30,655,832	188	5,07	21493.43	46.97	Kararsız
ClaHsp100-21	Cla009775	1	32,768,522	32,775,391	426	5,82	47767.52	51.00	Kararsız

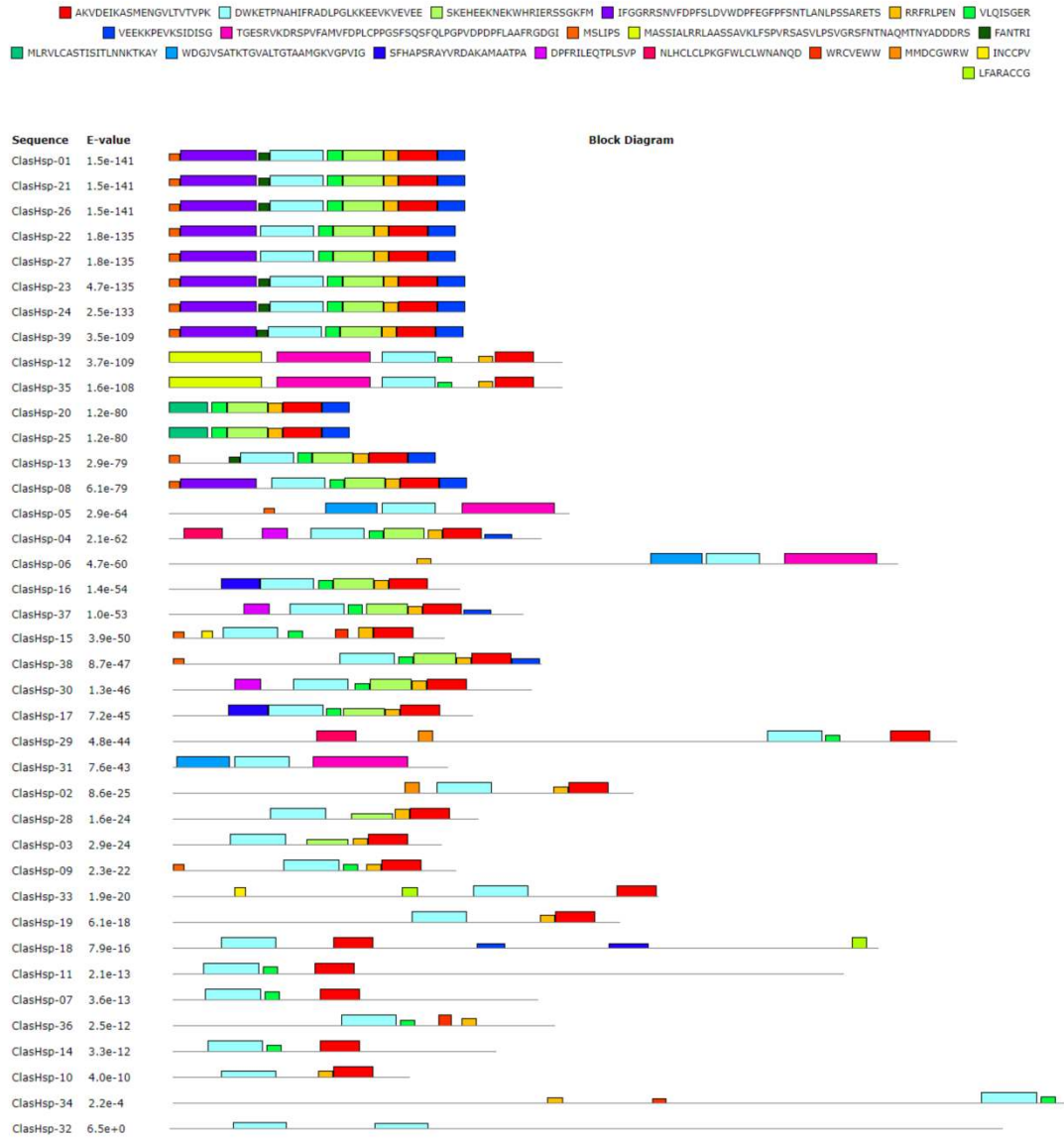
EK-8'in devamı,

ClaHsp100-22	Cla006812	2	9,848,878	9,855,458	645	9,32	71263.60	47.38	Kararsız
ClaHsp100-23	Cla019965	2	25,355,684	25,362,775	998			42.36	Kararsız
ClaHsp100-24	Cla019934	2	25,638,231	25,643,117	408	5,25	45831.77	35.51	Kararlı
ClaHsp100-25	Cla013457	2	29,216,505	29,228,041	986	6,59	113528.43	45.52	Kararsız
ClaHsp100-26	Cla013421	2	29,523,600	29,527,501	418	5,42	46964.61	38.04	Kararlı
ClaHsp100-27	Cla013326	2	30,322,154	30,325,398	611	4,50	66949.80	36.73	Kararlı
ClaHsp100-28	Cla013319	2	30,396,868	30,402,801	816	8,59	90278.22	39.29	Kararlı
ClaHsp100-29	Cla008643	2	32,335,622	32,339,479	433	7,03	48378.97	48.29	Kararsız
ClaHsp100-30	Cla008641	2	32,344,567	32,347,166	430	8,65	48383.16	38.14	Kararlı
ClaHsp100-31	Cla008640	2	32,350,426	32,355,268	433	7,65	48312.96	42.01	Kararsız
ClaHsp100-32	Cla008609	2	32,655,744	32,665,730	853	9,21	93107.95	36.21	Kararlı
ClaHsp100-33	Cla008178	3	855,026	860,939	828	9,00	90042.61	39.53	Kararlı
ClaHsp100-34	Cla008261	3	1,666,544	1,672,666	902	6,39	100255.07	42.89	Kararsız
ClaHsp100-35	Cla005117	3	3,381,800	3,385,776	456	5,15	50279.97	46.37	Kararsız
ClaHsp100-36	Cla002614	3	3,830,045	3,842,101	1194	5,98	129389.24	36.15	Kararlı
ClaHsp100-37	Cla005201	3	28,116,089	28,121,391	389	5,12	43852.19	35.49	Kararlı
ClaHsp100-38	Cla002779	4	702,578	706,767	1221	6,29	137301.51	49.34	Kararsız
ClaHsp100-39	Cla011695	4	6,666,160	6,667,194	313	8,90	34311.58	66.82	Kararsız
ClaHsp100-40	Cla011698	4	6,675,632	6,687,938	582	5,37	64893.13	41.83	Kararsız
ClaHsp100-41	Cla018198	4	19,680,785	19,684,958	654	9,47	72854.03	34.48	Kararlı
ClaHsp100-42	Cla018314	4	20,739,065	20,744,435	807	5,12	89634.69	42.93	Kararsız
ClaHsp100-43	Cla018573	4	23,413,276	23,416,450	908	5,93	100997.22	38.13	Kararlı
ClaHsp100-44	Cla021130	5	658,597	660,042	481	9,05	55256.43	47.88	Kararsız
ClaHsp100-45	Cla021434	5	3,153,596	3,165,446	952	6,98	106831.88	55.18	Kararsız
ClaHsp100-46	Cla021866	5	7,073,456	7,076,578	479	6,46	53895.92	42.33	Kararsız
ClaHsp100-47	Cla006249	5	7,587,914	7,591,819	233	9,60	25499.63	47.06	Kararsız
ClaHsp100-48	Cla004278	5	9,439,652	9,443,642	384	6,18	42578.84	55.13	Kararsız
ClaHsp100-49	Cla004289	5	9,547,047	9,556,277	1911	5,77	211183.80	44.99	Kararsız
ClaHsp100-50	Cla000874	5	20,178,800	20,185,127	1029	6,57	115374.73	36.87	Kararlı
ClaHsp100-51	Cla007398	5	22,696,676	22,699,512	715	5,81	76683.52	39.26	Kararlı
ClaHsp100-52	Cla021016	5	24,429,225	24,434,620	986	8,20	110267.97	39.55	Kararlı
ClaHsp100-53	Cla020874	5	26,029,087	26,033,811	756	9,13	81746.51	43.60	Kararsız
ClaHsp100-54	Cla020787	5	26,776,329	26,777,816	462	6,19	52626.22	46.43	Kararsız
ClaHsp100-55	Cla000386	5	30,970,261	30,976,113	614	6,56	67030.66	40.20	Kararsız
ClaHsp100-56	Cla001483	6	1,701,112	1,702,408	186	7,58	21159.13	48.81	Kararsız
ClaHsp100-57	Cla012284	6	19,157,150	19,162,023	418	8,70	47198.70	40.23	Kararsız
ClaHsp100-58	Cla018825	6	22,478,971	22,480,536	521	5,60	59297.17	46.34	Kararsız
ClaHsp100-59	Cla019212	6	26,052,606	26,057,583	819	5,15	91053.21	39.87	Kararlı
ClaHsp100-60	Cla019320	6	26,876,965	26,884,550	801	5,90	89176.19	44.12	Kararsız
ClaHsp100-61	Cla002747	7	629,893	633,296	445	6,05	49719.23	42.16	Kararsız
ClaHsp100-62	Cla002239	7	1,032,850	1,035,804	688	6,29	73555.11	33.79	Kararlı

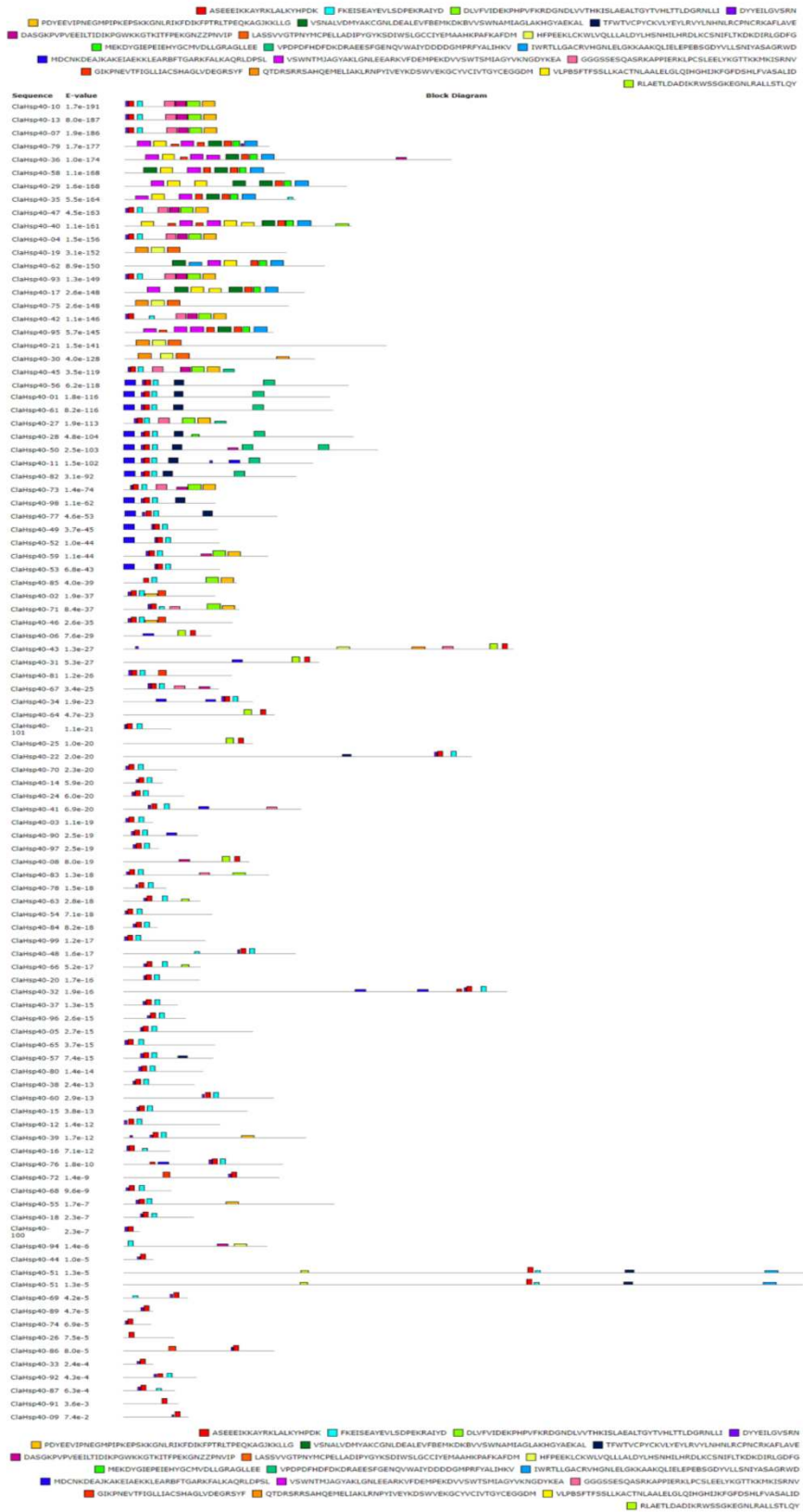
EK-8'in devamı,

ClaHsp100-63	Cla003995	7	3,452,211	3,454,479	442	5,65	48555.24	33.25	Kararlı
ClaHsp100-64	Cla007252	7	5,683,085	5,687,603	413	7,91	47595.34	44.49	Kararsız
ClaHsp100-65	Cla000763	7	18,666,327	18,672,181	849	6,75	94197.83	42.83	Kararsız
ClaHsp100-66	Cla014575	7	20,915,888	20,918,882	526	8,58	59976.47	57.40	Kararsız
ClaHsp100-67	Cla012813	7	26,912,032	26,919,035	931	7,60	105021.75	40.97	Kararsız
ClaHsp100-68	Cla005449	7	28,288,055	28,289,701	548	6,34	59700.89	46.71	Kararsız
ClaHsp100-69	Cla003858	8	3,720,377	3,728,919	704	8,44	80794.22	58.94	Kararsız
ClaHsp100-70	Cla002846	8	13,675,620	13,678,815	767	5,37	84521.52	55.72	Kararsız
ClaHsp100-71	Cla013923	8	14,898,506	14,904,127	371	7,66	41481.74	40.84	Kararsız
ClaHsp100-72	Cla013681	8	17,665,957	17,668,951	556	6,22	62457.83	54.40	Kararsız
ClaHsp100-73	Cla013669	8	17,794,928	17,795,377	149	9,69	16769.39	67.76	Kararsız
ClaHsp100-74	Cla022465	8	23,882,677	23,886,141	415	6,75	46379.25	34.70	Kararlı
ClaHsp100-75	Cla022466	8	23,888,292	23,891,825	398	7,71	44531.19	35.82	Kararlı
ClaHsp100-76	Cla015409	9	1,797,195	1,801,483	537	8,59	59130.70	48.15	Kararsız
ClaHsp100-77	Cla015315	9	2,517,006	2,520,360	427	6,03	47888.32	32.98	Kararlı
ClaHsp100-78	Cla015194	9	3,615,102	3,623,410	1030	6,71	115522.79	48.99	Kararsız
ClaHsp100-79	Cla015055	9	4,668,888	4,682,526	1121	6,23	121921.17	39.96	Kararlı
ClaHsp100-80	Cla014687	9	4,898,323	4,905,937	918	6,25	100486.92	46.88	Kararsız
ClaHsp100-81	Cla012893	9	20,215,952	20,226,095	1037	5,85	113194.58	45.69	Kararsız
ClaHsp100-82	Cla010328	9	30,360,510	30,364,098	679	5,90	73523.24	37.75	Kararlı
ClaHsp100-83	Cla010354	9	30,766,965	30,768,386	473	6,89	54437.43	45.26	Kararsız
ClaHsp100-84	Cla005583	9	33,737,000	33,745,653	917	6,84	100618.83	46.48	Kararsız
ClaHsp100-85	Cla008772	10	256,23	266,725	865	6,11	96028.51	37.65	Kararlı
ClaHsp100-86	Cla001144	10	3,797,278	3,799,589	199	8,81	21881.09	54.30	Kararsız
ClaHsp100-87	Cla017232	10	18,392,018	18,393,529	503	6,88	56270.77	53.76	Kararsız
ClaHsp100-88	Cla017037	10	20,681,823	20,683,430	535	6,53	62549.27	47.28	Kararsız
ClaHsp100-89	Cla017036	10	20,691,798	20,693,231	477	7,12	56151.40	46.65	Kararsız
ClaHsp100-90	Cla017003	10	21,133,523	21,135,673	308	6,67	34085.67	60.60	Kararsız
ClaHsp100-91	Cla017643	10	24,814,671	24,819,203	856	6,21	95530.20	56.45	Kararsız
ClaHsp100-92	Cla017808	10	26,337,720	26,342,709	804	5,06	89361.47	44.06	Kararsız
ClaHsp100-93	Cla006509	11	647,763	653,091	689	8,20	76811.99	52.37	Kararsız
ClaHsp100-94	Cla006542	11	1,151,314	1,153,481	478	5,80	52372.44	33.01	Kararlı
ClaHsp100-95	Cla006596	11	1,863,807	1,868,186	1124	6,75	125287.05	45.63	Kararsız
ClaHsp100-96	Cla022761	11	12,747,218	12,750,797	962	5,88	109143.65	57.96	Kararsız
ClaHsp100-97	Cla022854	11	14,730,915	14,733,825	447	5,97	49861.33	42.07	Kararsız
ClaHsp100-98	Cla022984	11	16,173,683	16,176,123	493	6,45	56033.94	52.67	Kararsız
ClaHsp100-99	Cla023188	11	18,319,925	18,324,871	336	5,57	37160.55	45.24	Kararsız
ClaHsp100-100	Cla023341	11	19,808,929	19,817,047	662	5,38	73330.49	46.89	Kararsız
ClaHsp100-101	Cla016480	11	21,786,827	21,789,102	585	9,89	64936.17	37.11	Kararlı
ClaHsp100-102	Cla016736	11	24,269,005	24,273,392	418	8,51	47264.91	42.25	Kararsız

EK-9 *ClasHsp* genlerinin motif kompozisyonları



EK-10 ClaHsp40 genlerinin motif kompozisyonları



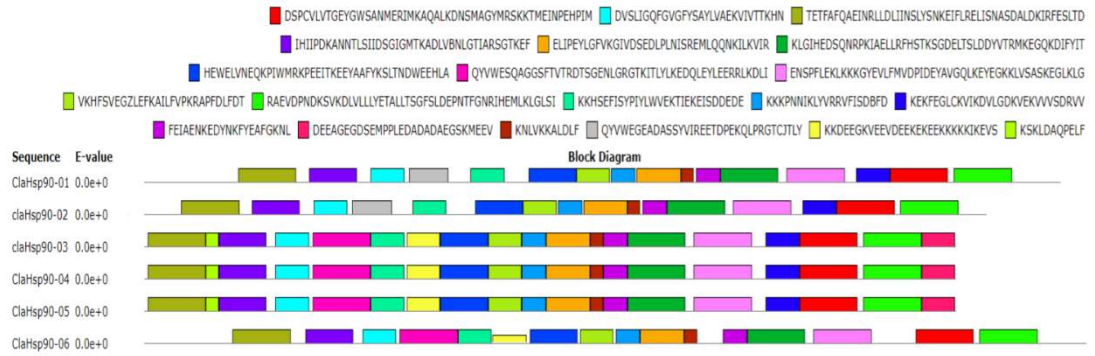
EK-11 ClasHsp60 genlerinin motif kompozisyonları



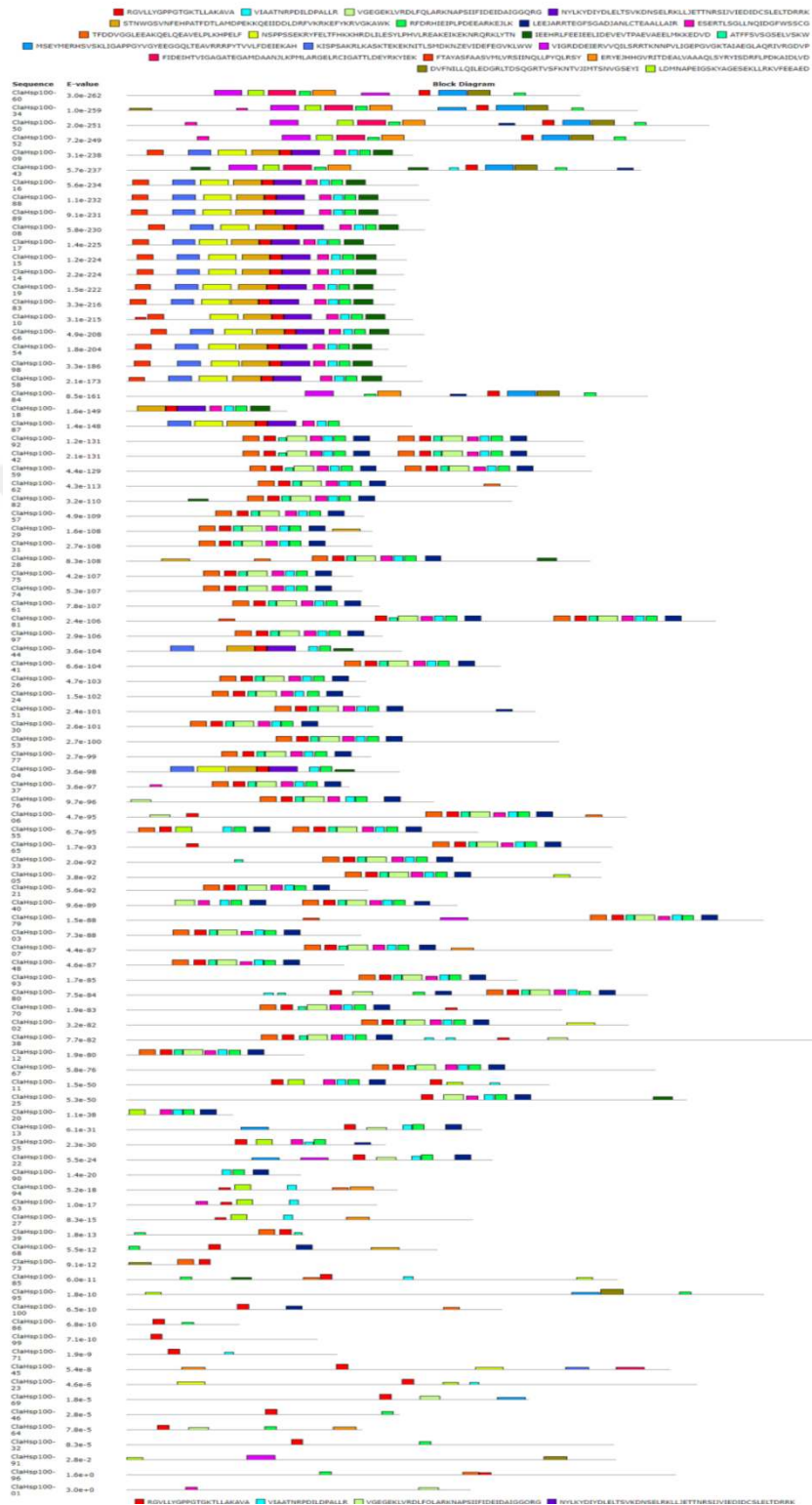
EK-12 ClasHsp70 genlerinin motif kompozisyonları



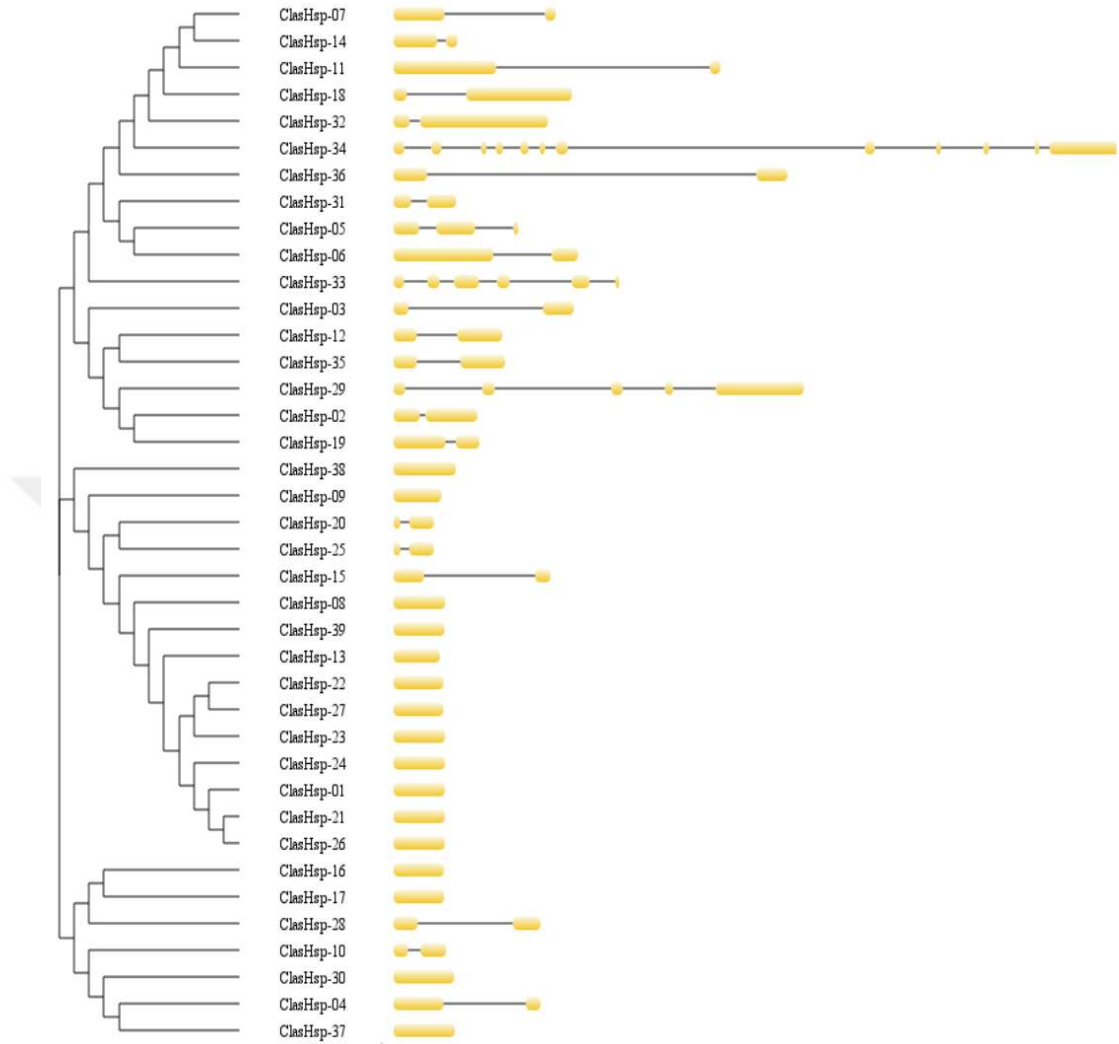
EK-13 ClaHsp90 genlerinin motif kompozisyonları



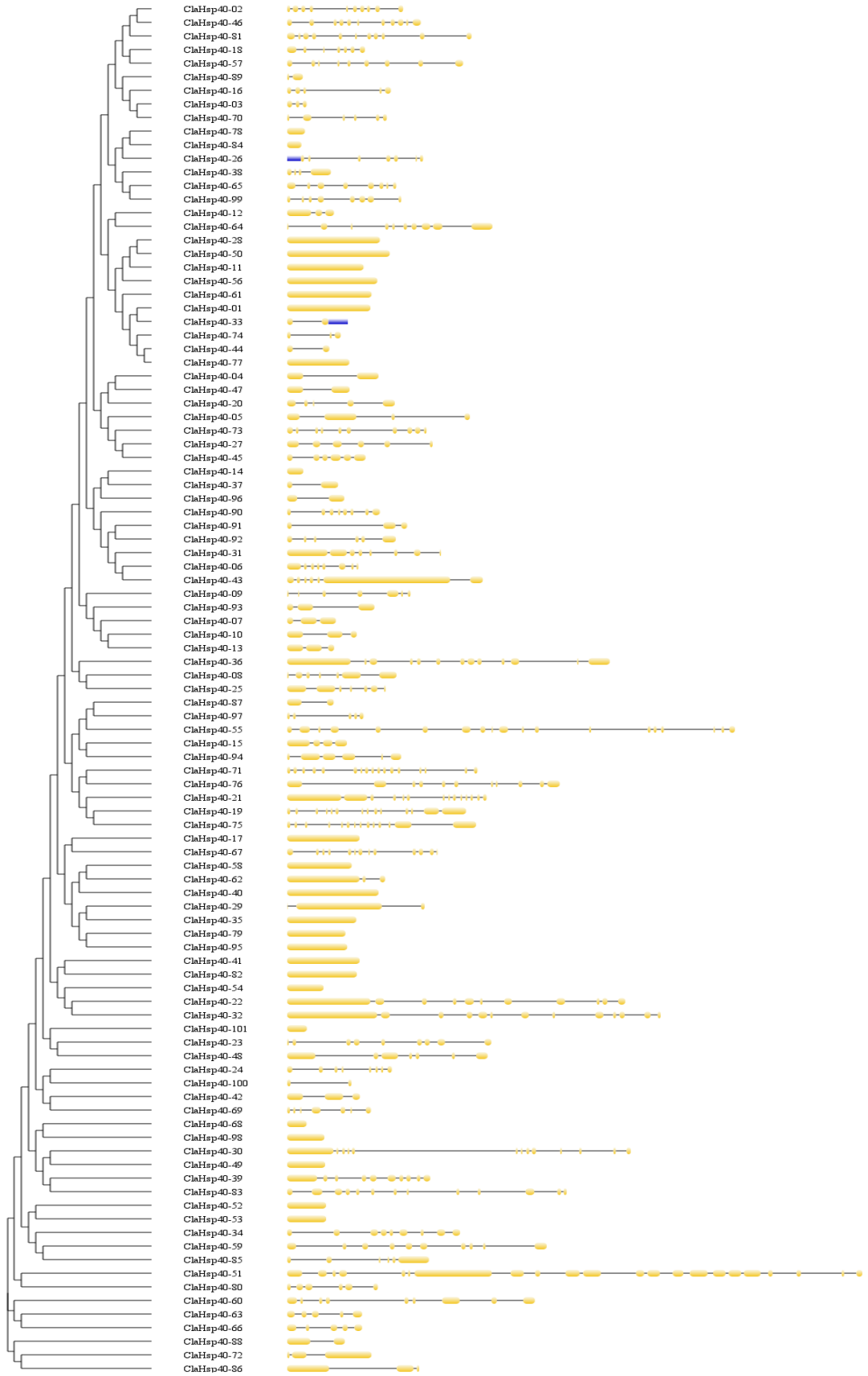
EK-14 ClasHsp100 genlerinin motif kompozisyonları



EK-15 *ClasHsp* genlerinin ekzon-intron yapısı



EK-16 ClaHsp40 genlerinin ekzon-intron yapısı



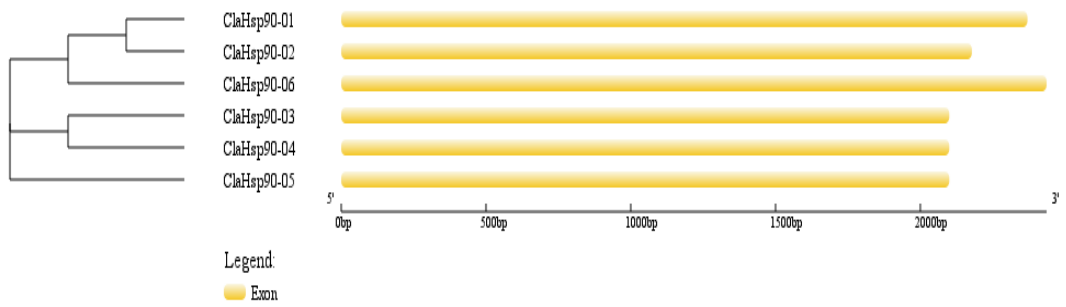
EK-17 ClaHsp60 genlerinin ekzon-intron yapısı



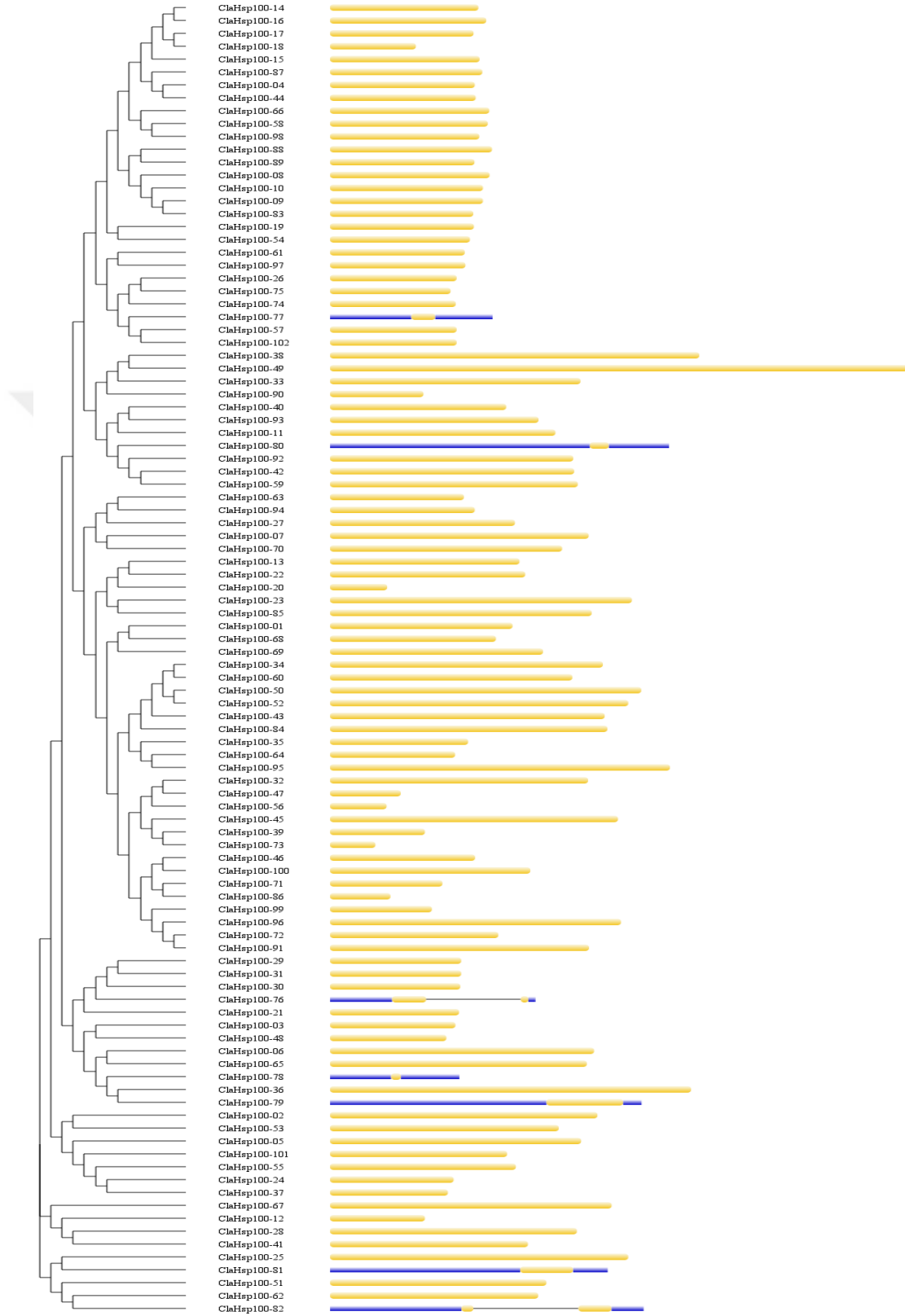
EK-18 ClaHsp70 genlerinin ekzon-intron yapısı



EK-19 ClaHsp90 genlerinin ekzon-intron yapısı



EK-20 ClaHsp100 genlerinin ekzon-intron yapısı



EK-21 *ClasHsp* genlerinin Arabidopsis, Soya, Çeltik, Kavak, Asma ve Mısır ile ortolog ilişkisi

Karpuz-Arabidopsis							
Protein Adı	Kromozom	Gen Adı	Kromozom	Ks	Ka	Ka/Ks	Myö
ClasHsp-01	Scaffold	AT5G59720.1	5	12,658	0,168	0,013	97,37
ClasHsp-01	Scaffold	AT1G53540.1	1	52,745	0,149	0,003	405,73
ClasHsp-01	Scaffold	AT3G46230.1	3	48,981	0,159	0,003	376,77
ClasHsp-05	2	AT1G54850.1	1	52,210	0,406	0,008	401,62
ClasHsp-13	4	AT5G59720.1	5	9,581	0,161	0,017	73,70
ClasHsp-13	4	AT1G53540.1	1	3,264	0,181	0,055	25,11
ClasHsp-13	4	AT3G46230.1	3	4,811	0,184	0,038	37,01
ClasHsp-21	7	AT5G59720.1	5	12,676	0,168	0,013	97,50
ClasHsp-21	7	AT1G53540.1	1	52,547	0,149	0,003	404,21
ClasHsp-21	7	AT3G46230.1	3	48,953	0,159	0,003	376,56
ClasHsp-22	7	AT1G53540.1	1	29,801	0,169	0,006	229,24
ClasHsp-22	7	AT3G46230.1	3	21,579	0,189	0,009	165,99
ClasHsp-23	7	AT1G53540.1	1	45,387	0,168	0,004	349,13
ClasHsp-23	7	AT5G59720.1	5	15,377	0,188	0,012	118,28
ClasHsp-23	7	AT3G46230.1	3	33,006	0,186	0,006	253,89
ClasHsp-24	7	AT5G59720.1	5	15,321	0,170	0,011	117,85
ClasHsp-24	7	AT1G53540.1	1	52,193	0,152	0,003	401,48
ClasHsp-24	7	AT3G46230.1	3	50,556	0,170	0,003	388,89
ClasHsp-26	7	AT5G59720.1	5	12,659	0,168	0,013	97,37
ClasHsp-26	7	AT1G53540.1	1	52,501	0,149	0,003	403,85
ClasHsp-26	7	AT3G46230.1	3	48,982	0,159	0,003	376,78
ClasHsp-34	10	AT2G17410.1	2	2,101	0,365	0,174	16,16
ClasHsp-34	10	AT1G76510.1	1	2,488	0,436	0,175	19,14
ClasHsp-34	10	AT1G20910.1	1	1,978	0,435	0,220	15,22
ClasHsp-39	11	AT3G46230.1	3	55,245	0,219	0,004	424,96
Ortalama				29,504	0,208	0,032	226,95

Karpuz-Soya							
Protein Adı	Kromozom	Gen Adı	Kromozom	Ks	Ka	Ka/Ks	Myö
ClasHsp-01	Scaffold	Glyma.14G063700.1	14	2,72	0,13	0,0485	20,89
ClasHsp-01	Scaffold	Glyma.02G252800.1	2	2,05	0,13	0,0656	15,74
ClasHsp-01	Scaffold	Glyma.07G200200.1	7	2,67	0,15	0,0560	20,50
ClasHsp-01	Scaffold	Glyma.13G176300.1	13	3,32	0,16	0,0489	25,56
ClasHsp-01	Scaffold	Glyma.08G069000.1	8	3,11	0,14	0,0455	23,93
ClasHsp-01	Scaffold	Glyma.07G200500.1	7	2,76	0,13	0,0462	21,21
ClasHsp-01	Scaffold	Glyma.07G200300.1	7	2,98	0,12	0,0408	22,94
ClasHsp-01	Scaffold	Glyma.08G068700.1	8	3,37	0,14	0,0420	25,91
ClasHsp-03	1	Glyma.14G214800.1	14	1,72	0,23	0,1318	13,22

EK 21'in devamı,

ClasHsp-08	3	Glyma.08G068700.1	8	2,57	0,19	0,0745	19,80
ClasHsp-13	4	Glyma.01G106800.1	1	2,26	0,14	0,0640	17,36
ClasHsp-13	4	Glyma.08G068700.1	8	3,66	0,18	0,0481	28,18
ClasHsp-13	4	Glyma.13G175700.1	13	2,53	0,17	0,0653	19,49
ClasHsp-13	4	Glyma.08G069000.1	8	3,64	0,18	0,0486	27,96
ClasHsp-13	4	Glyma.06G157800.1	6	4,41	0,17	0,0389	33,93
ClasHsp-16	5	Glyma.14G099900.1	14	2,92	0,09	0,0315	22,50
ClasHsp-16	5	Glyma.14G100000.1	14	3,04	0,09	0,0296	23,41
ClasHsp-16	5	Glyma.04G054400.1	4	2,31	0,10	0,0431	17,75
ClasHsp-16	5	Glyma.17G224900.1	17	2,79	0,10	0,0371	21,50
ClasHsp-16	5	Glyma.06G054700.1	6	4,38	0,11	0,0246	33,71
ClasHsp-16	5	Glyma.17G225000.1	17	4,09	0,11	0,0274	31,43
ClasHsp-21	7	Glyma.14G063700.1	14	2,72	0,13	0,0485	20,89
ClasHsp-21	7	Glyma.02G252800.1	2	2,05	0,13	0,0656	15,74
ClasHsp-21	7	Glyma.07G200200.1	7	2,67	0,15	0,0560	20,50
ClasHsp-21	7	Glyma.13G176300.1	13	3,32	0,16	0,0489	25,56
ClasHsp-22	7	Glyma.02G252800.1	2	3,21	0,16	0,0489	24,66
ClasHsp-22	7	Glyma.07G200500.1	7	14,05	0,15	0,0109	108,06
ClasHsp-22	7	Glyma.07G200300.1	7	3,78	0,15	0,0386	29,05
ClasHsp-22	7	Glyma.06G157800.1	6	4,70	0,16	0,0350	36,16
ClasHsp-22	7	Glyma.08G069000.1	8	4,43	0,17	0,0378	34,10
ClasHsp-23	7	Glyma.02G252800.1	2	2,79	0,15	0,0519	21,50
ClasHsp-23	7	Glyma.13G176300.1	13	3,46	0,18	0,0507	26,62
ClasHsp-23	7	Glyma.07G200200.1	7	3,53	0,16	0,0466	27,16
ClasHsp-24	7	Glyma.14G063700.1	14	2,30	0,13	0,0571	17,67
ClasHsp-26	7	Glyma.14G063700.1	14	2,72	0,13	0,0485	20,89
ClasHsp-26	7	Glyma.02G252800.1	2	2,05	0,13	0,0656	15,74
ClasHsp-26	7	Glyma.07G200200.1	7	2,67	0,15	0,0560	20,50
ClasHsp-26	7	Glyma.13G176300.1	13	3,32	0,16	0,0489	25,57
ClasHsp-27	7	Glyma.07G200500.1	7	56,95	0,30	0,0053	438,09
ClasHsp-27	7	Glyma.07G200300.1	7	56,92	0,30	0,0053	437,85
ClasHsp-34	10	Glyma.11G088400.2	11	1,93	0,25	0,1284	14,83
ClasHsp-34	10	Glyma.01G156400.1	1	2,05	0,25	0,1216	15,79
ClasHsp-36	10	Glyma.12G215300.1	12	19,17	0,33	0,0171	147,47
ClasHsp-36	10	Glyma.13G286300.1	13	17,11	0,33	0,0190	131,61
ClasHsp-39	11	Glyma.14G063700.1	14	4,54	0,18	0,0386	34,94
ClasHsp-39	11	Glyma.02G252800.1	2	4,12	0,18	0,0430	31,67
ClasHsp-39	11	Glyma.08G069000.1	8	11,73	0,17	0,0142	90,27
Ortalama				6,42	0,17	0,0482	49,36

EK 21'in devamı,

Karpuz-Çeltik							
Protein Adı	Kromozom	Gen Adı	Kromozom	Ks	Ka	Ka/Ks	Myö
ClasHsp-01	Scaffold	LOC_Os03g16020.1	3	35,33	0,18	0,0050	271,73
ClasHsp-01	Scaffold	LOC_Os03g16030.1	3	32,46	0,17	0,0053	249,69
ClasHsp-13	4	LOC_Os01g04380.1	1	28,71	0,18	0,0064	220,82
ClasHsp-21	7	LOC_Os03g16020.1	3	34,84	0,18	0,0050	268,00
ClasHsp-21	7	LOC_Os03g16030.1	3	35,11	0,17	0,0049	270,06
ClasHsp-26	7	LOC_Os03g16020.1	3	35,75	0,18	0,0049	275,02
ClasHsp-34	10	LOC_Os06g41730.1	2	4,78	0,38	0,0790	36,77
ClasHsp-34	10	LOC_Os02g48370.1	2	4,39	0,45	0,1019	33,75
Ortalama				26,42	0,23	0,0265	203,23

Karpuz-Üzüm							
Protein Adı	Kromozom	Gen Adı	Kromozom	Ks	Ka	Ka/Ks	Myö
ClasHsp-01	Scaffold	GSVIVT01016403001	13	2,54	0,13	0,053	19,50
ClasHsp-16	5	GSVIVT01035435001	4	2,54	0,10	0,040	19,57
ClasHsp-16	5	GSVIVT01035434001	4	2,99	0,09	0,032	22,99
ClasHsp-19	5	GSVIVT01010308001	1	2,38	0,18	0,078	18,33
ClasHsp-34	10	GSVIVT01026435001	4	1,29	0,06	0,043	9,94
Ortalama				2,35	0,11	0,049	18,07

Karpuz-Mısır							
Protein Adı	Kromozom	Gen Adı	Kromozom	Ks	Ka	Ka/Ks	Myö
ClasHsp-01	Scaffold	GRMZM2G306679_T01	1	45,49	0,19	0,0041	349,96
ClasHsp-01	Scaffold	AC208204.3_FGT006	1	19,21	0,17	0,0088	147,74
ClasHsp-21	7	GRMZM2G306679_T01	1	44,26	0,18	0,0042	340,49
ClasHsp-21	7	AC208204.3_FGT006	1	19,22	0,17	0,0088	147,85
ClasHsp-23	7	GRMZM2G306679_T01	1	11,72	0,22	0,0187	90,13
ClasHsp-34	10	GRMZM2G180654_T04	6	2,70	0,22	0,0801	20,73
Ortalama				23,77	0,19	0,0208	182,82

Karpuz-Kavak							
Protein Adı	Kromozom	Gen Adı	Kromozom	Ks	Ka	Ka/Ks	Myö
ClasHsp-01	Scaffold	Potri.008G062300.1	8	5,80	0,13	0,022	44,65
ClasHsp-01	Scaffold	Potri.010G195700.1	10	5,43	0,14	0,026	41,79
ClasHsp-01	Scaffold	Potri.001G238700.1	1	30,70	0,12	0,004	236,19
ClasHsp-01	Scaffold	Potri.009G039200.1	9	2,13	0,19	0,090	16,35
ClasHsp-03	1	Potri.017G130700.2	17	1,70	0,21	0,126	13,09
ClasHsp-05	2	Potri.013G024600.2	13	2,25	0,33	0,147	17,29
ClasHsp-08	3	Potri.001G238700.1	1	19,96	0,17	0,008	153,53

EK 21'in devamı,

ClasHsp-08	3	Potri.009G039200.1	9	3,93	0,20	0,050	30,24
ClasHsp-13	4	Potri.006G093500.1	6	4,03	0,14	0,036	31,02
ClasHsp-13	4	Potri.008G062300.1	8	5,51	0,17	0,032	42,38
ClasHsp-16	5	Potri.006G223900.1	6	2,94	0,08	0,027	22,61
ClasHsp-19	5	Potri.010G053400.1	10	2,55	0,20	0,080	19,65
ClasHsp-21	7	Potri.008G062300.1	8	5,81	0,13	0,022	44,66
ClasHsp-21	7	Potri.010G195700.1	10	5,43	0,14	0,026	41,78
ClasHsp-21	7	Potri.001G238700.1	1	30,28	0,12	0,004	232,94
ClasHsp-22	7	Potri.008G062300.1	8	2,33	0,12	0,051	17,91
ClasHsp-22	7	Potri.010G195700.1	10	2,98	0,13	0,044	22,94
ClasHsp-22	7	Potri.001G238700.1	1	17,09	0,11	0,007	131,45
ClasHsp-22	7	Potri.009G039200.1	9	2,96	0,18	0,062	22,77
ClasHsp-23	7	Potri.001G238700.1	1	16,02	0,12	0,007	123,20
ClasHsp-23	7	Potri.008G062300.1	8	3,14	0,14	0,043	24,13
ClasHsp-23	7	Potri.010G195700.1	10	3,27	0,14	0,042	25,14
ClasHsp-23	7	Potri.009G039200.1	9	3,66	0,18	0,050	28,17
ClasHsp-24	7	Potri.008G062300.1	8	4,17	0,13	0,030	32,09
ClasHsp-24	7	Potri.001G238700.1	1	12,34	0,11	0,009	94,90
ClasHsp-27	7	Potri.008G062300.1	8	2,33	0,12	0,051	17,91
ClasHsp-34	10	Potri.001G456500.1	1	1,91	0,32	0,168	14,70
ClasHsp-34	10	Potri.004G208900.1	4	2,31	0,39	0,171	17,75
ClasHsp-34	10	Potri.002G003700.1	2	3,41	0,41	0,121	26,25
ClasHsp-34	10	Potri.011G145400.1	11	1,43	0,11	0,079	11,01
ClasHsp-36	10	Potri.001G416200.1	1	6,00	0,33	0,056	46,18
ClasHsp-36	10	Potri.011G131800.1	11	5,28	0,37	0,071	40,59
ClasHsp-39	11	Potri.001G238700.1	1	5,88	0,19	0,032	45,23
ClasHsp-39	11	Potri.010G195700.1	10	10,97	0,15	0,014	84,40
ClasHsp-39	11	Potri.008G062300.1	8	12,07	0,17	0,014	92,84
Ortalama				7,09	0,18	0,052	54,51

EK-22 *ClaHsp70* genlerinin Arabidopsis, Soya, Çeltik, Kavak, Asma ve Mısır ile ortolog ilişkisi

Karpuz-Arabidopsis							
Protein Adı	Kromozom	Gen Adı	Kromozom	Ks	Ka	Ka/Ks	Myö
ClaHsp70-01	scaffold	AT1G11660.1	1	6,33	0,27	0,043	48,677
ClaHsp70-02	1	AT5G42020.1	5	1,97	0,05	0,025	15,140
ClaHsp70-02	1	AT5G28540.1	5	2,02	0,05	0,024	15,556
ClaHsp70-02	1	AT1G09080.1	1	25,93	0,16	0,006	199,453
ClaHsp70-02	1	AT1G09080.2	1	29,86	0,15	0,005	229,674
ClaHsp70-02	1	AT5G42020.2	5	1,68	0,05	0,031	12,952
ClaHsp70-02	1	AT3G12580.1	3	26,81	0,29	0,011	206,200
ClaHsp70-02	1	AT3G09440.2	3	53,30	0,29	0,006	410,013
ClaHsp70-02	1	AT3G09440.1	3	53,30	0,29	0,006	409,964
ClaHsp70-02	1	AT1G16030.1	1	44,34	0,30	0,007	341,050
ClaHsp70-02	1	AT5G02500.1	5	54,87	0,31	0,006	422,093
ClaHsp70-02	1	AT5G02490.1	5	49,95	0,31	0,006	384,255
ClaHsp70-02	1	AT1G56410.1	1	53,74	0,31	0,006	413,412
ClaHsp70-03	4	AT3G12580.1	3	11,09	0,04	0,003	85,275
ClaHsp70-03	4	AT5G02490.1	5	6,62	0,05	0,007	50,928
ClaHsp70-03	4	AT3G09440.2	3	4,92	0,05	0,009	37,808
ClaHsp70-03	4	AT3G09440.1	3	4,91	0,05	0,009	37,791
ClaHsp70-03	4	AT5G02500.1	5	2,36	0,03	0,014	18,132
ClaHsp70-03	4	AT1G56410.1	1	3,27	0,06	0,019	25,132
ClaHsp70-03	4	AT1G16030.1	1	8,80	0,10	0,012	67,722
ClaHsp70-03	4	AT5G28540.1	5	44,33	0,27	0,006	341,006
ClaHsp70-03	4	AT5G42020.1	5	43,14	0,28	0,007	331,832
ClaHsp70-03	4	AT5G02500.2	5	2,98	0,04	0,012	22,909
ClaHsp70-03	4	AT1G09080.1	1	52,08	0,30	0,006	400,591
ClaHsp70-03	4	AT1G09080.2	1	52,08	0,30	0,006	400,645
ClaHsp70-03	4	AT5G42020.2	5	26,14	0,28	0,011	201,069
ClaHsp70-04	5	AT2G32120.2	2	12,20	0,19	0,016	93,818
ClaHsp70-04	5	AT2G32120.1	2	12,22	0,19	0,016	94,020
ClaHsp70-05	6	AT4G24280.1	4	5,07	0,10	0,019	38,992
ClaHsp70-05	6	AT5G49910.1	5	4,94	0,10	0,021	38,033
ClaHsp70-05	6	AT5G09590.1	5	49,42	0,42	0,009	380,187
ClaHsp70-05	6	AT4G37910.1	4	49,48	0,44	0,009	380,599
ClaHsp70-06	9	AT1G79930.1	1	4,41	0,13	0,030	33,960
ClaHsp70-06	9	AT1G79930.2	1	4,72	0,12	0,026	36,324
ClaHsp70-07	9	AT4G24280.1	4	6,31	0,13	0,020	48,548
ClaHsp70-07	9	AT5G49910.1	5	5,70	0,12	0,022	43,848
ClaHsp70-07	9	AT5G09590.1	5	37,43	0,45	0,012	287,957
ClaHsp70-07	9	AT4G37910.1	4	48,16	0,44	0,009	370,453

EK-22'nin devamı,

ClaHsp70-08	9	AT3G12580.1	3	4,30	0,03	0,008	33,115
ClaHsp70-08	9	AT5G02500.1	5	9,24	0,04	0,004	71,094
ClaHsp70-08	9	AT3G09440.2	3	6,70	0,04	0,007	51,537
ClaHsp70-08	9	AT3G09440.1	3	6,70	0,04	0,007	51,507
ClaHsp70-08	9	AT5G02490.1	5	6,87	0,05	0,007	52,873
ClaHsp70-08	9	AT1G56410.1	1	3,76	0,07	0,019	28,889
ClaHsp70-08	9	AT1G16030.1	1	8,01	0,10	0,012	61,619
ClaHsp70-08	9	AT5G28540.1	5	33,26	0,26	0,008	255,875
ClaHsp70-08	9	AT5G42020.1	5	36,36	0,28	0,008	279,715
ClaHsp70-08	9	AT5G02500.2	5	7,99	0,05	0,006	61,436
ClaHsp70-08	9	AT1G09080.1	1	16,55	0,30	0,018	127,316
ClaHsp70-08	9	AT1G09080.2	1	16,55	0,30	0,018	127,303
ClaHsp70-09	9	AT3G12580.1	3	10,07	0,04	0,004	77,448
ClaHsp70-09	9	AT5G02500.1	5	5,57	0,04	0,007	42,867
ClaHsp70-09	9	AT5G02490.1	5	6,21	0,05	0,008	47,748
ClaHsp70-09	9	AT3G09440.2	3	7,87	0,05	0,006	60,561
ClaHsp70-09	9	AT3G09440.1	3	7,88	0,05	0,006	60,642
ClaHsp70-09	9	AT1G16030.1	1	10,34	0,10	0,010	79,525
ClaHsp70-09	9	AT1G56410.1	1	8,11	0,07	0,008	62,398
ClaHsp70-09	9	AT5G28540.1	5	37,40	0,28	0,008	287,669
ClaHsp70-09	9	AT5G42020.1	5	40,83	0,28	0,007	314,038
ClaHsp70-09	9	AT1G09080.1	1	18,95	0,30	0,016	145,737
ClaHsp70-10	10	AT5G09590.1	5	3,40	0,07	0,022	26,142
ClaHsp70-10	10	AT4G37910.1	4	4,26	0,12	0,028	32,779
ClaHsp70-10	10	AT4G24280.1	4	50,68	0,43	0,008	389,881
ClaHsp70-10	10	AT5G49910.1	5	49,13	0,44	0,009	377,928
ClaHsp70-11	11	AT1G16030.1	1	5,23	0,09	0,018	40,212
ClaHsp70-11	11	AT3G12580.1	3	11,11	0,09	0,008	85,476
ClaHsp70-11	11	AT5G02500.1	5	26,44	0,09	0,003	203,411
ClaHsp70-11	11	AT3G09440.2	3	5,44	0,10	0,018	41,854
ClaHsp70-11	11	AT5G02490.1	5	15,70	0,10	0,006	120,751
ClaHsp70-11	11	AT1G56410.1	1	5,92	0,11	0,019	45,571
ClaHsp70-11	11	AT5G28540.1	5	17,66	0,29	0,016	135,865
ClaHsp70-11	11	AT5G42020.1	5	19,74	0,29	0,015	151,848
ClaHsp70-11	11	AT1G09080.1	1	6,24	0,30	0,048	48,031
ClaHsp70-12	11	AT4G16660.1	4	2,58	0,19	0,074	19,845
Ortalama				19,46	0,18	0,014	149,683

EK-22'nin devamı,

Karpuz-Soya							
Protein Adı	Kromozom	Gen Adı	Kromozom	Ks	Ka	Ka/Ks	Myö
ClaHsp70-01	scaffold	Glyma.08G315300.1	8	1,85	0,22	0,12	14,24
ClaHsp70-01	scaffold	Glyma.08G315300.2	8	1,85	0,22	0,12	14,24
ClaHsp70-01	scaffold	Glyma.18G098800.1	18	2,07	0,23	0,11	15,95
ClaHsp70-01	scaffold	Glyma.14G024200.1	14	1,88	0,22	0,12	14,42
ClaHsp70-01	scaffold	Glyma.15G014400.1	15	14,88	0,38	0,03	114,46
ClaHsp70-02	1	Glyma.08G025700.1	8	1,70	0,02	0,01	13,05
ClaHsp70-02	1	Glyma.05G219400.1	5	1,36	0,03	0,02	10,47
ClaHsp70-02	1	Glyma.05G219600.1	5	1,72	0,05	0,03	13,25
ClaHsp70-02	1	Glyma.08G025900.1	8	1,72	0,05	0,03	13,20
ClaHsp70-02	1	Glyma.05G219400.2	5	1,26	0,04	0,03	9,66
ClaHsp70-02	1	Glyma.17G072400.1	17	24,13	0,28	0,01	185,60
ClaHsp70-02	1	Glyma.02G205600.1	2	44,59	0,29	0,01	342,98
ClaHsp70-02	1	Glyma.18G289100.1	18	53,26	0,30	0,01	409,69
ClaHsp70-02	1	Glyma.11G140500.1	11	41,86	0,29	0,01	322,02
ClaHsp70-02	1	Glyma.12G064000.1	12	44,10	0,29	0,01	339,21
ClaHsp70-02	1	Glyma.18G289600.1	18	33,69	0,31	0,01	259,16
ClaHsp70-02	1	Glyma.03G171100.1	3	52,80	0,30	0,01	406,15
ClaHsp70-02	1	Glyma.19G172200.1	19	53,19	0,31	0,01	409,18
ClaHsp70-02	1	Glyma.13G130900.1	13	53,29	0,30	0,01	409,92
ClaHsp70-02	1	Glyma.03G171100.2	3	52,68	0,30	0,01	405,27
ClaHsp70-02	1	Glyma.02G093200.1	2	53,56	0,31	0,01	411,96
ClaHsp70-02	1	Glyma.19G172200.2	19	53,92	0,30	0,01	414,75
ClaHsp70-02	1	Glyma.15G088000.1	15	51,80	0,38	0,01	398,47
ClaHsp70-02	1	Glyma.18G287900.1	18	52,70	0,43	0,01	405,36
ClaHsp70-02	1	Glyma.18G287800.1	18	32,31	0,42	0,01	248,52
ClaHsp70-02	1	Glyma.02G085600.1	2	52,24	0,44	0,01	401,81
ClaHsp70-02	1	Glyma.02G085600.2	2	52,23	0,44	0,01	401,79
ClaHsp70-02	1	Glyma.07G170800.2	7	52,23	0,43	0,01	401,77
ClaHsp70-02	1	Glyma.07G170800.5	7	52,23	0,43	0,01	401,80
ClaHsp70-02	1	Glyma.07G170800.4	7	52,23	0,43	0,01	401,79
ClaHsp70-02	1	Glyma.07G170800.3	7	52,23	0,43	0,01	401,74
ClaHsp70-02	1	Glyma.07G170800.1	7	52,22	0,44	0,01	401,68
ClaHSp70-03	4	Glyma.11G140500.1	11	1,96	0,03	0,01	15,09
ClaHSp70-03	4	Glyma.18G289600.1	18	2,89	0,03	0,01	22,26
ClaHSp70-03	4	Glyma.03G171100.1	3	1,58	0,02	0,02	12,18
ClaHSp70-03	4	Glyma.18G289100.1	18	2,36	0,03	0,01	18,15
ClaHSp70-03	4	Glyma.12G064000.1	12	2,52	0,02	0,01	19,42
ClaHSp70-03	4	Glyma.19G172200.1	19	2,09	0,02	0,01	16,05

EK-22'nin devamı,

ClaHSp70-03	4	Glyma.13G130900.1	13	1,60	0,02	0,01	12,32
ClaHSp70-03	4	Glyma.17G072400.1	17	8,85	0,08	0,01	68,11
ClaHSp70-03	4	Glyma.03G171100.2	3	1,61	0,02	0,01	12,39
ClaHSp70-03	4	Glyma.02G205600.1	2	7,74	0,08	0,01	59,51
ClaHSp70-03	4	Glyma.02G093200.1	2	2,81	0,08	0,03	21,63
ClaHSp70-03	4	Glyma.19G172200.2	19	2,32	0,06	0,02	17,88
ClaHSp70-03	4	Glyma.18G287900.1	18	3,68	0,24	0,06	28,33
ClaHSp70-03	4	Glyma.15G087900.1	15	23,75	0,25	0,01	182,69
ClaHSp70-03	4	Glyma.15G088000.1	15	20,96	0,21	0,01	161,22
ClaHSp70-03	4	Glyma.02G085600.1	2	3,74	0,26	0,07	28,77
ClaHSp70-03	4	Glyma.02G085600.2	2	3,74	0,26	0,07	28,77
ClaHSp70-03	4	Glyma.08G025900.1	8	39,50	0,29	0,01	303,88
ClaHSp70-03	4	Glyma.18G287800.1	18	3,04	0,24	0,08	23,41
ClaHSp70-03	4	Glyma.07G170800.2	7	4,80	0,23	0,05	36,91
ClaHSp70-03	4	Glyma.07G170800.5	7	4,80	0,23	0,05	36,91
ClaHSp70-03	4	Glyma.07G170800.4	7	4,80	0,23	0,05	36,91
ClaHSp70-03	4	Glyma.05G219400.1	5	18,77	0,29	0,02	144,35
ClaHSp70-03	4	Glyma.08G025700.1	8	17,30	0,28	0,02	133,10
ClaHSp70-03	4	Glyma.05G219600.1	5	15,90	0,28	0,02	122,32
ClaHSp70-04	5	Glyma.01G238600.1	1	1,59	0,14	0,09	12,24
ClaHSp70-05	6	Glyma.16G002500.1	16	2,61	0,04	0,02	20,11
ClaHSp70-05	6	Glyma.07G184300.1	7	50,96	0,42	0,01	391,99
ClaHSp70-05	6	Glyma.15G059900.1	15	50,08	0,43	0,01	385,25
ClaHSp70-05	6	Glyma.08G065100.1	8	50,65	0,42	0,01	389,65
ClaHSp70-05	6	Glyma.13G254900.1	13	50,29	0,43	0,01	386,83
ClaHSp70-05	6	Glyma.08G065100.2	8	50,83	0,39	0,01	390,97
ClaHSp70-05	6	Glyma.12G166200.1	12	3,70	0,04	0,01	28,45
ClaHSp70-06	9	Glyma.15G014400.1	15	2,00	0,11	0,05	15,36
ClaHSp70-06	9	Glyma.13G359500.1	13	2,13	0,10	0,05	16,39
ClaHSp70-06	9	Glyma.13G359500.2	13	2,11	0,11	0,05	16,27
ClaHSp70-06	9	Glyma.08G206900.1	8	1,81	0,14	0,08	13,92
ClaHSp70-06	9	Glyma.07G006300.1	7	1,86	0,15	0,08	14,31
ClaHSp70-07	9	Glyma.16G002500.1	16	4,38	0,10	0,02	33,72
ClaHSp70-07	9	Glyma.15G059900.1	15	49,76	0,43	0,01	382,74
ClaHSp70-07	9	Glyma.08G065100.1	8	49,35	0,43	0,01	379,58
ClaHSp70-07	9	Glyma.07G184300.1	7	49,30	0,43	0,01	379,22
ClaHSp70-07	9	Glyma.13G254900.1	13	49,91	0,43	0,01	383,96
ClaHSp70-08	9	Glyma.11G140500.1	11	7,63	0,03	0,00	58,69
ClaHSp70-08	9	Glyma.18G289100.1	18	3,25	0,04	0,01	25,03
ClaHSp70-08	9	Glyma.19G172200.1	19	2,36	0,03	0,01	18,18
ClaHSp70-08	9	Glyma.03G171100.1	3	2,37	0,03	0,01	18,21

EK-22'nin devamı,

ClaHsp70-08	9	Glyma.12G064000.1	12	8,57	0,03	0,00	65,90
ClaHsp70-08	9	Glyma.18G289600.1	18	2,93	0,03	0,01	22,54
ClaHsp70-08	9	Glyma.13G130900.1	13	4,06	0,03	0,01	31,24
ClaHsp70-08	9	Glyma.17G072400.1	17	6,06	0,08	0,01	46,59
ClaHsp70-08	9	Glyma.02G205600.1	2	6,17	0,08	0,01	47,47
ClaHsp70-08	9	Glyma.03G171100.2	3	2,34	0,03	0,01	17,98
ClaHsp70-08	9	Glyma.02G093200.1	2	3,19	0,09	0,03	24,54
ClaHsp70-08	9	Glyma.19G172200.2	19	3,93	0,06	0,02	30,24
ClaHsp70-08	9	Glyma.18G287900.1	18	2,90	0,23	0,08	22,32
ClaHsp70-08	9	Glyma.15G087900.1	15	16,23	0,24	0,01	124,86
ClaHsp70-08	9	Glyma.08G025900.1	8	36,98	0,28	0,01	284,50
ClaHsp70-08	9	Glyma.15G088000.1	15	14,01	0,20	0,01	107,74
ClaHsp70-08	9	Glyma.05G219400.2	5	14,46	0,26	0,02	111,24
ClaHsp70-09	9	Glyma.12G064000.1	12	5,84	0,03	0,01	44,90
ClaHsp70-09	9	Glyma.11G140500.1	11	4,67	0,03	0,01	35,89
ClaHsp70-09	9	Glyma.03G171100.1	3	3,41	0,03	0,01	26,25
ClaHsp70-09	9	Glyma.19G172200.2	19	5,37	0,07	0,01	41,29
ClaHsp70-09	9	Glyma.02G093200.1	2	2,80	0,09	0,03	21,56
ClaHsp70-09	9	Glyma.18G289100.1	18	2,66	0,04	0,01	20,48
ClaHsp70-09	9	Glyma.18G289600.1	18	4,80	0,03	0,01	36,95
ClaHsp70-09	9	Glyma.13G130900.1	13	4,28	0,03	0,01	32,94
ClaHsp70-09	9	Glyma.17G072400.1	17	9,16	0,08	0,01	70,49
ClaHsp70-09	9	Glyma.02G205600.1	2	9,73	0,08	0,01	74,82
ClaHsp70-09	9	Glyma.03G171100.2	3	3,08	0,02	0,01	23,69
ClaHsp70-09	9	Glyma.18G287800.1	18	6,00	0,24	0,04	46,12
ClaHsp70-09	9	Glyma.05G219400.1	5	17,17	0,29	0,02	132,05
ClaHsp70-09	9	Glyma.18G287900.1	18	4,77	0,22	0,05	36,67
ClaHsp70-09	9	Glyma.08G025700.1	8	24,91	0,28	0,01	191,59
ClaHsp70-09	9	Glyma.15G088000.1	15	16,61	0,20	0,01	127,79
ClaHsp70-09	9	Glyma.05G219600.1	5	50,05	0,28	0,01	384,98
ClaHsp70-09	9	Glyma.08G025900.1	8	52,25	0,28	0,01	401,94
ClaHsp70-09	9	Glyma.07G170800.1	7	3,98	0,23	0,06	30,60
ClaHsp70-09	9	Glyma.02G085600.1	2	5,77	0,26	0,05	44,41
ClaHsp70-09	9	Glyma.15G087900.1	15	41,16	0,25	0,01	316,59
ClaHsp70-10	10	Glyma.15G059900.1	15	1,72	0,05	0,03	13,26
ClaHsp70-10	10	Glyma.13G254900.1	13	1,68	0,05	0,03	12,91
ClaHsp70-10	10	Glyma.08G065100.1	8	1,61	0,05	0,03	12,36
ClaHsp70-10	10	Glyma.07G184300.1	7	1,58	0,05	0,03	12,15
ClaHsp70-10	10	Glyma.08G065100.2	8	1,50	0,04	0,03	11,57
ClaHsp70-10	10	Glyma.16G002500.1	16	32,33	0,43	0,01	248,67
ClaHsp70-10	10	Glyma.05G219600.1	5	54,38	0,48	0,01	418,30

EK-22'nin devamı,

ClaHsp70-10	10	Glyma.08G025700.1	8	52,95	0,46	0,01	407,34
ClaHsp70-10	10	Glyma.05G219400.1	5	52,92	0,47	0,01	407,08
ClaHsp70-10	10	Glyma.08G025900.1	8	53,08	0,50	0,01	408,33
ClaHsp70-11	11	Glyma.17G072400.1	17	4,49	0,06	0,01	34,51
ClaHsp70-11	11	Glyma.02G205600.1	2	4,21	0,06	0,01	32,41
ClaHsp70-11	11	Glyma.11G140500.1	11	11,36	0,09	0,01	87,42
ClaHsp70-11	11	Glyma.12G064000.1	12	11,01	0,08	0,01	84,66
ClaHsp70-11	11	Glyma.18G289600.1	18	13,07	0,09	0,01	100,50
ClaHsp70-11	11	Glyma.18G289100.1	18	9,08	0,08	0,01	69,82
ClaHsp70-11	11	Glyma.19G172200.1	19	11,75	0,09	0,01	90,38
ClaHsp70-11	11	Glyma.03G171100.1	3	9,98	0,09	0,01	76,78
ClaHsp70-11	11	Glyma.13G130900.1	13	11,21	0,09	0,01	86,26
ClaHsp70-11	11	Glyma.03G171100.2	3	11,39	0,09	0,01	87,63
ClaHsp70-11	11	Glyma.02G093200.1	2	8,40	0,08	0,01	64,62
ClaHsp70-11	11	Glyma.19G172200.2	19	14,60	0,09	0,01	112,33
ClaHsp70-11	11	Glyma.15G088000.1	15	12,85	0,18	0,01	98,86
ClaHsp70-11	11	Glyma.18G287900.1	18	42,64	0,27	0,01	327,98
ClaHsp70-11	11	Glyma.18G287800.1	18	11,21	0,26	0,02	86,24
ClaHsp70-11	11	Glyma.08G025700.1	8	51,24	0,29	0,01	394,15
ClaHsp70-11	11	Glyma.05G219600.1	5	51,56	0,29	0,01	396,61
ClaHsp70-11	11	Glyma.05G219400.1	5	51,47	0,30	0,01	395,94
ClaHsp70-11	11	Glyma.08G025900.1	8	51,80	0,29	0,01	398,46
ClaHsp70-11	11	Glyma.07G170800.1	7	9,73	0,26	0,03	74,87
ClaHsp70-11	11	Glyma.02G085600.1	2	10,54	0,28	0,03	81,05
ClaHsp70-11	11	Glyma.15G087900.1	15	13,16	0,23	0,02	101,20
ClaHsp70-11	11	Glyma.18G290600.1	18	20,47	0,27	0,01	157,42
ClaHsp70-12	11	Glyma.20G065900.1	20	2,05	0,21	0,10	15,76
ClaHsp70-12	11	Glyma.13G003700.1	13	2,09	0,21	0,10	16,11
Ortalama				19,54	0,20	0,02	150,27

Karpuz-Çeltik							
Protein Adı	Kromozom	Gen Adı	Kromozom	Ks	Ka	Ka/Ks	Myö
ClaHsp70-01	scaffold	LOC_Os06g46600.1	6	8,80	0,38	0,044	67,70
ClaHsp70-02	1	LOC_Os02g02410.1	2	6,02	0,05	0,009	46,27
ClaHsp70-02	1	LOC_Os03g50250.1	3	60,34	0,16	0,003	464,14
ClaHsp70-02	1	LOC_Os08g09770.1	8	61,48	0,17	0,003	472,96
ClaHsp70-02	1	LOC_Os05g35400.1	1	61,47	0,17	0,003	472,82
ClaHsp70-02	1	LOC_Os05g30480.1	5	59,01	0,21	0,004	453,89
ClaHsp70-02	1	LOC_Os03g16920.1	3	68,64	0,27	0,004	527,97
ClaHsp70-02	1	LOC_Os01g62290.1	1	52,97	0,27	0,005	407,48
ClaHsp70-02	1	LOC_Os03g60620.1	3	16,78	0,29	0,017	129,04

EK-22'nin devamı,

ClaHsp70-02	1	LOC_Os05g38530.1	5	65,38	0,27	0,004	502,94
ClaHsp70-02	1	LOC_Os03g16860.1	3	68,25	0,28	0,004	525,04
ClaHsp70-02	1	LOC_Os11g47760.1	11	56,42	0,29	0,005	433,99
ClaHsp70-02	1	LOC_Os01g62290.2	1	52,98	0,27	0,005	407,56
ClaHsp70-02	1	LOC_Os03g16860.2	3	65,10	0,28	0,004	500,79
ClaHsp70-02	1	LOC_Os11g47760.2	11	55,41	0,29	0,005	426,26
ClaHsp70-02	1	LOC_Os11g47760.3	11	53,73	0,38	0,007	413,31
ClaHsp70-02	1	LOC_Os11g47760.5	11	35,76	0,28	0,008	275,10
ClaHsp70-02	1	LOC_Os11g47760.4	11	57,46	0,29	0,005	442,01
ClaHsp70-02	1	LOC_Os03g16880.1	3	60,22	0,35	0,006	463,22
ClaHsp70-03	4	LOC_Os11g47760.1	11	6,77	0,02	0,004	52,10
ClaHsp70-03	4	LOC_Os03g60620.1	3	10,08	0,03	0,003	77,53
ClaHsp70-03	4	LOC_Os05g38530.1	5	34,68	0,03	0,001	266,75
ClaHsp70-03	4	LOC_Os01g62290.1	1	32,12	0,03	0,001	247,06
ClaHsp70-03	4	LOC_Os03g16920.1	3	49,02	0,06	0,001	377,11
ClaHsp70-03	4	LOC_Os11g47760.2	11	5,82	0,02	0,004	44,80
ClaHsp70-03	4	LOC_Os01g62290.2	1	28,70	0,03	0,001	220,79
ClaHsp70-03	4	LOC_Os03g16860.1	3	37,49	0,04	0,001	288,36
ClaHsp70-03	4	LOC_Os02g02410.1	2	54,17	0,26	0,005	416,69
ClaHsp70-04	5	LOC_Os03g11910.2	3	25,74	0,23	0,009	198,01
ClaHsp70-04	5	LOC_Os03g11910.1	3	25,35	0,23	0,009	194,97
ClaHsp70-05	6	LOC_Os05g23740.1	5	11,37	0,09	0,008	87,45
ClaHsp70-05	6	LOC_Os12g14070.1	12	4,87	0,10	0,021	37,43
ClaHsp70-05	6	LOC_Os02g53420.1	2	48,93	0,44	0,009	376,38
ClaHsp70-05	6	LOC_Os03g02260.1	3	48,75	0,44	0,009	375,03
ClaHsp70-05	6	LOC_Os09g31486.1	9	43,06	0,45	0,010	331,20
ClaHsp70-06	9	LOC_Os01g08560.2	1	5,55	0,17	0,030	42,66
ClaHsp70-06	9	LOC_Os01g08560.1	1	5,55	0,17	0,030	42,67
ClaHsp70-06	9	LOC_Os05g08840.1	5	5,01	0,22	0,043	38,58
ClaHsp70-07	9	LOC_Os05g23740.1	5	3,76	0,11	0,029	28,95
ClaHsp70-07	9	LOC_Os12g14070.1	12	4,55	0,12	0,027	34,97
ClaHsp70-07	9	LOC_Os02g53420.1	2	48,43	0,44	0,009	372,55
ClaHsp70-07	9	LOC_Os03g02260.1	3	48,19	0,43	0,009	370,67
ClaHsp70-08	9	LOC_Os11g47760.1	11	6,81	0,03	0,004	52,39
ClaHsp70-08	9	LOC_Os03g60620.1	3	7,89	0,04	0,005	60,71
ClaHsp70-08	9	LOC_Os03g16860.1	3	36,16	0,04	0,001	278,13
ClaHsp70-08	9	LOC_Os05g38530.1	5	28,38	0,04	0,001	218,29
ClaHsp70-08	9	LOC_Os01g62290.1	1	35,13	0,04	0,001	270,25
ClaHsp70-08	9	LOC_Os03g16920.1	3	16,76	0,06	0,004	128,95
ClaHsp70-08	9	LOC_Os11g47760.2	11	5,44	0,03	0,005	41,85
ClaHsp70-08	9	LOC_Os11g47760.4	11	7,23	0,06	0,009	55,62

EK-22'nin devamı,

ClaHsp70-08	9	LOC_Os03g16860.2	3	24,01	0,04	0,002	184,73
ClaHsp70-08	9	LOC_Os01g62290.2	1	30,93	0,03	0,001	237,95
ClaHsp70-08	9	LOC_Os03g50250.1	3	61,58	0,29	0,005	473,70
ClaHsp70-08	9	LOC_Os08g09770.1	8	60,36	0,30	0,005	464,31
ClaHsp70-08	9	LOC_Os02g02410.1	2	42,64	0,27	0,006	328,01
ClaHsp70-09	9	LOC_Os11g47760.4	11	4,81	0,07	0,015	36,97
ClaHsp70-09	9	LOC_Os01g62290.1	1	30,44	0,03	0,001	234,19
ClaHsp70-09	9	LOC_Os05g38530.1	5	34,09	0,04	0,001	262,21
ClaHsp70-09	9	LOC_Os03g16860.1	3	25,11	0,04	0,002	193,12
ClaHsp70-09	9	LOC_Os03g60620.1	3	5,99	0,04	0,007	46,09
ClaHsp70-09	9	LOC_Os03g16920.1	3	57,15	0,07	0,001	439,61
ClaHsp70-09	9	LOC_Os01g62290.2	1	26,15	0,03	0,001	201,19
ClaHsp70-09	9	LOC_Os03g16860.2	3	29,99	0,04	0,001	230,73
ClaHsp70-09	9	LOC_Os08g09770.1	8	62,57	0,30	0,005	481,29
ClaHsp70-09	9	LOC_Os03g50250.1	3	62,89	0,30	0,005	483,79
ClaHsp70-09	9	LOC_Os02g02410.1	2	54,76	0,26	0,005	421,27
ClaHsp70-09	9	LOC_Os05g35400.1	5	62,39	0,28	0,005	479,92
ClaHsp70-10	10	LOC_Os02g53420.1	2	6,16	0,08	0,013	47,41
ClaHsp70-10	10	LOC_Os03g02260.1	3	4,99	0,09	0,018	38,42
ClaHsp70-10	10	LOC_Os09g31486.1	9	52,28	0,14	0,003	402,15
ClaHsp70-10	10	LOC_Os12g14070.1	12	48,34	0,41	0,009	371,84
ClaHsp70-10	10	LOC_Os05g23740.1	5	47,83	0,41	0,009	367,94
ClaHsp70-10	10	LOC_Os02g02410.1	2	53,35	0,47	0,009	410,36
ClaHsp70-11	11	LOC_Os05g38530.1	5	18,48	0,08	0,004	142,19
ClaHsp70-11	11	LOC_Os01g62290.1	1	32,53	0,08	0,002	250,23
ClaHsp70-11	11	LOC_Os03g16920.1	3	67,64	0,08	0,001	520,31
ClaHsp70-11	11	LOC_Os11g47760.1	11	26,69	0,09	0,003	205,31
ClaHsp70-11	11	LOC_Os03g60620.1	3	9,38	0,09	0,010	72,17
ClaHsp70-11	11	LOC_Os03g16860.1	3	47,61	0,09	0,002	366,20
ClaHsp70-11	11	LOC_Os02g02410.1	2	54,71	0,28	0,005	420,85
ClaHsp70-11	11	LOC_Os03g16880.1	3	13,24	0,20	0,015	101,84
ClaHsp70-11	11	LOC_Os03g50250.1	3	64,72	0,31	0,005	497,83
ClaHsp70-11	11	LOC_Os08g09770.1	8	63,39	0,31	0,005	487,65
ClaHsp70-11	11	LOC_Os05g35400.1	5	63,62	0,30	0,005	489,36
ClaHsp70-11	11	LOC_Os11g08460.1	11	10,58	0,24	0,022	81,37
ClaHsp70-12	11	LOC_Os02g48110.1	2	15,43	0,28	0,018	118,69
Ortalama				35,75	0,18	0,008	275,03

EK-22'nin devamı,

Karpuz-Kavak							
Protein Adı	Kromozom	Gen Adı	Kromozom	Ks	Ka	Ka/Ks	Myö
ClaHsp70-01	scaffold	Potri.011G139100.2	11	1,44	0,19	0,132	11,063
ClaHsp70-01	scaffold	Potri.011G139100.1	11	1,44	0,19	0,132	11,085
ClaHsp70-01	scaffold	Potri.004G016700.1	4	2,85	0,26	0,093	21,944
ClaHsp70-01	scaffold	Potri.004G016700.2	4	2,72	0,27	0,097	20,946
ClaHsp70-01	scaffold	Potri.004G016700.3	4	2,73	0,24	0,087	20,977
ClaHsp70-02	1	Potri.003G143600.1	3	1,25	0,03	0,023	9,578
ClaHsp70-02	1	Potri.001G087500.1	1	1,40	0,03	0,020	10,802
ClaHsp70-02	1	Potri.012G017600.1	12	1,49	0,05	0,032	11,487
ClaHsp70-02	1	Potri.013G018000.1	13	32,83	0,12	0,004	252,555
ClaHsp70-02	1	Potri.001G087500.2	1	1,20	0,04	0,029	9,254
ClaHsp70-02	1	Potri.003G143600.3	3	1,18	0,05	0,044	9,064
ClaHsp70-02	1	Potri.003G143600.2	3	1,35	0,05	0,035	10,361
ClaHsp70-02	1	Potri.012G017600.2	12	1,48	0,12	0,082	11,386
ClaHsp70-02	1	Potri.010G206600.1	10	52,61	0,31	0,006	404,727
ClaHsp70-02	1	Potri.010G205800.1	10	53,37	0,31	0,006	410,558
ClaHsp70-02	1	Potri.008G054000.1	8	54,34	0,30	0,006	417,972
ClaHsp70-02	1	Potri.010G205700.1	10	54,15	0,31	0,006	416,521
ClaHsp70-02	1	Potri.001G042600.1	1	55,40	0,30	0,005	426,153
ClaHsp70-02	1	Potri.008G054600.1	8	54,42	0,30	0,006	418,583
ClaHsp70-02	1	Potri.008G054700.1	8	54,00	0,31	0,006	415,395
ClaHsp70-02	1	Potri.001G042700.1	1	8,17	0,30	0,036	62,881
ClaHsp70-02	1	Potri.001G087500.3	1	1,26	0,03	0,027	9,655
ClaHsp70-02	1	Potri.008G054600.2	8	54,42	0,29	0,005	418,589
ClaHsp70-02	1	Potri.008G054700.3	8	53,56	0,32	0,006	412,023
ClaHsp70-02	1	Potri.008G054700.2	8	53,48	0,30	0,006	411,408
ClaHsp70-02	1	Potri.003G184000.1	3	56,63	0,33	0,006	435,621
ClaHsp70-02	1	Potri.008G054900.1	8	24,31	0,37	0,015	187,025
ClaHsp70-02	1	Potri.010G205800.2	10	54,12	0,30	0,006	416,317
ClaHsp70-02	1	Potri.001G285500.1	1	52,62	0,45	0,009	404,751
ClaHsp70-03	4	Potri.008G054000.1	8	2,01	0,02	0,011	15,471
ClaHsp70-03	4	Potri.008G054600.1	8	2,17	0,02	0,011	16,715
ClaHsp70-03	4	Potri.010G205700.1	10	2,19	0,02	0,010	16,812
ClaHsp70-03	4	Potri.010G206600.1	10	2,73	0,03	0,010	21,005
ClaHsp70-03	4	Potri.008G054700.1	8	2,17	0,02	0,011	16,668
ClaHsp70-03	4	Potri.010G205800.1	10	2,04	0,03	0,013	15,667
ClaHsp70-03	4	Potri.008G054600.2	8	2,07	0,03	0,012	15,933
ClaHsp70-03	4	Potri.008G054700.3	8	2,54	0,04	0,017	19,508
ClaHsp70-03	4	Potri.008G054700.2	8	2,04	0,02	0,009	15,703
ClaHsp70-03	4	Potri.001G042600.1	1	9,69	0,07	0,008	74,504

EK-22'nin devamı,

ClaHSp70-03	4	Potri.003G184000.1	3	9,09	0,11	0,012	69,937
ClaHSp70-03	4	Potri.001G042700.1	1	8,22	0,08	0,010	63,214
ClaHSp70-03	4	Potri.008G054900.1	8	3,01	0,18	0,059	23,158
ClaHSp70-03	4	Potri.001G087500.1	1	35,73	0,28	0,008	274,865
ClaHSp70-03	4	Potri.003G143600.1	3	27,63	0,28	0,010	212,508
ClaHSp70-03	4	Potri.012G017600.1	12	12,43	0,28	0,023	95,619
ClaHSp70-03	4	Potri.013G018000.1	13	8,37	0,31	0,037	64,389
ClaHSp70-04	5	Potri.008G152000.1	8	1,68	0,13	0,080	12,950
ClaHSp70-04	5	Potri.010G088600.1	10	1,61	0,14	0,084	12,357
ClaHSp70-05	6	Potri.004G224400.1	4	2,27	0,05	0,023	17,428
ClaHSp70-05	6	Potri.003G006300.1	3	2,37	0,06	0,024	18,256
ClaHSp70-05	6	Potri.004G224400.2	4	2,21	0,05	0,024	17,008
ClaHSp70-05	6	Potri.004G224400.3	4	2,16	0,06	0,027	16,595
ClaHSp70-05	6	Potri.003G006300.2	3	2,38	0,11	0,045	18,332
ClaHSp70-05	6	Potri.009G079700.1	9	50,15	0,43	0,009	385,777
ClaHSp70-05	6	Potri.001G285500.1	1	49,69	0,43	0,009	382,235
ClaHSp70-06	9	Potri.001G180100.1	1	2,38	0,12	0,050	18,334
ClaHSp70-06	9	Potri.003G055800.4	3	2,03	0,13	0,063	15,611
ClaHSp70-06	9	Potri.003G055800.1	3	2,09	0,13	0,061	16,055
ClaHSp70-06	9	Potri.003G055800.5	3	2,09	0,13	0,061	16,055
ClaHSp70-07	9	Potri.004G224400.1	4	4,02	0,11	0,026	30,912
ClaHSp70-07	9	Potri.003G006300.1	3	4,14	0,11	0,027	31,840
ClaHSp70-07	9	Potri.004G224400.2	4	3,81	0,10	0,027	29,316
ClaHSp70-07	9	Potri.004G224400.3	4	4,58	0,09	0,020	35,221
ClaHSp70-07	9	Potri.003G006300.2	3	5,47	0,14	0,025	42,079
ClaHSp70-07	9	Potri.009G079700.1	9	49,49	0,43	0,009	380,682
ClaHSp70-07	9	Potri.001G285500.1	1	48,15	0,43	0,009	370,397
ClaHSp70-08	9	Potri.010G205700.1	10	3,50	0,03	0,008	26,937
ClaHSp70-08	9	Potri.008G054000.1	8	4,02	0,03	0,008	30,949
ClaHSp70-08	9	Potri.010G206600.1	10	3,02	0,04	0,012	23,205
ClaHSp70-08	9	Potri.008G054600.1	8	4,06	0,03	0,008	31,198
ClaHSp70-08	9	Potri.008G054700.1	8	2,70	0,04	0,013	20,768
ClaHSp70-08	9	Potri.010G205800.1	10	4,09	0,03	0,007	31,425
ClaHSp70-08	9	Potri.008G054700.3	8	2,85	0,05	0,019	21,945
ClaHSp70-08	9	Potri.008G054600.2	8	3,71	0,03	0,008	28,557
ClaHSp70-08	9	Potri.001G042600.1	1	6,65	0,07	0,011	51,119
ClaHSp70-08	9	Potri.008G054700.2	8	2,55	0,03	0,012	19,630
ClaHSp70-08	9	Potri.010G205800.2	10	3,74	0,06	0,017	28,745
ClaHSp70-08	9	Potri.001G042700.1	1	8,72	0,09	0,010	67,077
ClaHSp70-08	9	Potri.003G184000.1	3	6,25	0,10	0,016	48,096
ClaHSp70-08	9	Potri.008G054900.1	8	2,91	0,18	0,063	22,422

EK-22'nin devamı,

ClaHsp70-09	9	Potri.008G054000.1	8	3,57	0,03	0,008	27,475
ClaHsp70-09	9	Potri.010G205700.1	10	3,03	0,02	0,007	23,341
ClaHsp70-09	9	Potri.008G054700.1	8	2,38	0,03	0,012	18,337
ClaHsp70-09	9	Potri.010G205800.2	10	2,69	0,08	0,028	20,691
ClaHsp70-09	9	Potri.010G206600.1	10	2,47	0,03	0,013	18,968
ClaHsp70-09	9	Potri.008G054600.1	8	3,06	0,03	0,009	23,552
ClaHsp70-09	9	Potri.001G042600.1	1	7,65	0,08	0,010	58,832
ClaHsp70-09	9	Potri.001G042700.1	1	7,24	0,09	0,012	55,723
ClaHsp70-09	9	Potri.003G184000.1	3	9,59	0,11	0,011	73,778
ClaHsp70-09	9	Potri.001G087500.1	1	37,21	0,28	0,008	286,203
ClaHsp70-09	9	Potri.003G143600.1	3	34,81	0,29	0,008	267,744
ClaHsp70-09	9	Potri.012G017600.1	12	13,07	0,29	0,022	100,525
ClaHsp70-09	9	Potri.013G018000.1	13	7,41	0,31	0,041	57,011
ClaHsp70-10	10	Potri.001G285500.1	1	2,68	0,07	0,025	20,647
ClaHsp70-10	10	Potri.009G079700.1	9	2,26	0,06	0,026	17,355
ClaHsp70-10	10	Potri.004G224400.1	4	49,97	0,42	0,008	384,375
ClaHsp70-10	10	Potri.003G006300.1	3	49,96	0,42	0,008	384,315
ClaHsp70-11	11	Potri.001G042600.1	1	4,35	0,05	0,012	33,487
ClaHsp70-11	11	Potri.001G042700.1	1	4,54	0,06	0,014	34,930
ClaHsp70-11	11	Potri.008G054000.1	8	9,40	0,08	0,009	72,316
ClaHsp70-11	11	Potri.010G206600.1	10	7,81	0,08	0,011	60,110
ClaHsp70-11	11	Potri.008G054600.1	8	7,66	0,09	0,012	58,952
ClaHsp70-11	11	Potri.010G205800.1	10	7,60	0,09	0,012	58,449
ClaHsp70-11	11	Potri.008G054700.1	8	8,29	0,09	0,011	63,805
ClaHsp70-11	11	Potri.010G205700.1	10	9,31	0,09	0,010	71,643
ClaHsp70-11	11	Potri.003G184000.1	3	3,43	0,09	0,025	26,396
ClaHsp70-11	11	Potri.008G054900.1	8	13,63	0,21	0,016	104,814
ClaHsp70-11	11	Potri.001G087500.1	1	49,01	0,29	0,006	377,007
ClaHsp70-11	11	Potri.003G143600.1	3	30,78	0,29	0,009	236,772
ClaHsp70-11	11	Potri.012G017600.1	12	16,85	0,30	0,018	129,638
ClaHsp70-11	11	Potri.013G018000.1	13	7,06	0,30	0,042	54,315
ClaHsp70-12	11	Potri.016G019800.1	16	1,57	0,18	0,112	12,108
ClaHsp70-12	11	Potri.006G022100.1	6	1,83	0,18	0,099	14,098
Ortalama				14,58	0,16	0,025	112,191

Karpuz-Üzüm							
Protein Adı	Kromozom	Gen Adı	Kromozom	Ks	Ka	Ka/Ks	Myö
ClaHsp70-02	1	GSVIVT01038580001	16	1,67	0,04	0,02	12,83
ClaHsp70-02	1	GSVIVT01019607001	2	1,19	0,03	0,02	9,13

EK-22'nin devamı,

ClaHsp70-02	1	GSVIVT01031125001	14	15,33	0,12	0,01	117,89
ClaHsp70-03	4	GSVIVT01019607001	2	19,26	0,27	0,01	148,14
ClaHsp70-03	4	GSVIVT01038580001	16	15,13	0,28	0,02	116,39
ClaHsp70-04	5	GSVIVT01017960001	5	1,33	0,16	0,12	10,25
ClaHsp70-05	6	GSVIVT01026014001	18	3,91	0,05	0,01	30,05
ClaHsp70-05	6	GSVIVT01008331001	17	1,70	0,04	0,02	13,09
ClaHsp70-05	6	GSVIVT01038517001	3	49,35	0,40	0,01	379,65
ClaHsp70-06	9	GSVIVT01017110001	9	1,86	0,10	0,06	14,34
ClaHsp70-07	9	GSVIVT01026014001	18	2,10	0,06	0,03	16,15
ClaHsp70-07	9	GSVIVT01008331001	17	2,22	0,07	0,03	17,11
ClaHsp70-07	9	GSVIVT01038517001	3	48,57	0,40	0,01	373,62
ClaHsp70-08	9	GSVIVT01038580001	16	16,97	0,28	0,02	130,57
ClaHsp70-08	9	GSVIVT01019607001	2	15,12	0,27	0,02	116,33
ClaHsp70-09	9	GSVIVT01038580001	16	12,47	0,29	0,02	95,90
ClaHsp70-09	9	GSVIVT01019607001	2	13,19	0,27	0,02	101,46
ClaHsp70-10	10	GSVIVT01038517001	3	1,70	0,04	0,02	13,07
ClaHsp70-10	10	GSVIVT01006769001	scaffold	2,72	0,07	0,03	20,90
ClaHsp70-10	10	GSVIVT01026014001	18	51,30	0,40	0,01	394,59
ClaHsp70-10	10	GSVIVT01008331001	17	49,31	0,38	0,01	379,33
ClaHsp70-10	10	GSVIVT01019607001	2	53,74	0,44	0,01	413,37
ClaHsp70-11	11	GSVIVT01038580001	16	11,52	0,29	0,03	88,62
ClaHsp70-11	11	GSVIVT01019607001	2	51,56	0,29	0,01	396,65
ClaHsp70-11	11	GSVIVT01031125001	14	23,51	0,30	0,01	180,87
ClaHsp70-12	11	GSVIVT01038380001	9	1,82	0,17	0,10	13,97
ClaHsp70-12	11	GSVIVT01035736001	4	1,64	0,16	0,10	12,65
ClaHsp70-12	11	GSVIVT01026352001	4	1,60	0,21	0,13	12,34
Ortalama				16,85	0,21	0,03	129,62

Karpuz-Mısır							
Protein Adı	Kromozom	Gen Adı	Kromozom	Ks	Ka	Ka/Ks	Myö
ClaHsp70-02	1	GRMZM2G114793_T01	5	5,59	0,05	0,009	43,009
ClaHsp70-02	1	GRMZM2G415007_T01	4	4,08	0,05	0,013	31,390
ClaHsp70-02	1	GRMZM2G366532_T02	9	63,20	0,29	0,005	486,149
ClaHsp70-02	1	GRMZM2G366532_T01	9	65,70	0,26	0,004	505,391
ClaHsp70-02	1	AC209784.3_FGT007	3	59,15	0,27	0,005	454,963
ClaHsp70-02	1	GRMZM5G802801_T01	8	63,49	0,26	0,004	488,375
ClaHsp70-02	1	GRMZM2G310431_T01	8	50,74	0,27	0,005	390,328
ClaHsp70-02	1	GRMZM2G471196_T01	5	50,69	0,19	0,004	389,940
ClaHsp70-02	1	GRMZM2G340251_T02	3	30,35	0,29	0,010	233,499

EK-22'nin devamı,

ClaHsp70-02	1	GRMZM2G340251_T03	3	28,86	0,29	0,010	222,022
ClaHsp70-02	1	GRMZM2G340251_T01	3	30,40	0,29	0,010	233,820
ClaHsp70-02	1	GRMZM2G056039_T01	1	28,31	0,29	0,010	217,793
ClaHsp70-02	1	GRMZM2G428391_T01	1	63,37	0,28	0,004	487,495
ClaHsp70-02	1	GRMZM2G428391_T02	1	65,88	0,28	0,004	506,775
ClaHsp70-02	1	GRMZM2G340251_T04	3	57,33	0,28	0,005	440,962
ClaHsp70-02	1	GRMZM2G145275_T01	1	21,31	0,36	0,017	163,909
ClaHsp70-03	4	GRMZM2G340251_T02	3	8,79	0,03	0,003	67,652
ClaHsp70-03	4	GRMZM2G056039_T01	1	9,07	0,03	0,003	69,766
ClaHsp70-03	4	GRMZM5G802801_T01	8	36,26	0,04	0,001	278,890
ClaHsp70-03	4	GRMZM2G428391_T01	1	30,07	0,04	0,001	231,298
ClaHsp70-03	4	AC209784.3_FGT007	3	40,03	0,04	0,001	307,952
ClaHsp70-03	4	GRMZM2G310431_T01	8	41,35	0,04	0,001	318,042
ClaHsp70-03	4	GRMZM2G366532_T02	9	49,05	0,06	0,001	377,315
ClaHsp70-03	4	GRMZM2G415007_T01	4	54,47	0,27	0,005	418,971
ClaHsp70-03	4	GRMZM2G114793_T01	5	41,14	0,27	0,006	316,467
ClaHsp70-03	4	GRMZM2G106429_T01	4	10,18	0,16	0,016	78,298
ClaHsp70-03	4	GRMZM2G145275_T01	1	27,33	0,21	0,008	210,243
ClaHsp70-04	5	GRMZM2G024718_T01	9	6,62	0,23	0,035	50,924
ClaHsp70-05	6	GRMZM2G111475_T01	5	7,03	0,09	0,012	54,062
ClaHsp70-05	6	GRMZM2G079668_T02	1	7,11	0,09	0,013	54,699
ClaHsp70-05	6	GRMZM2G079668_T01	1	7,12	0,09	0,013	54,736
ClaHsp70-05	6	GRMZM2G001500_T02	10	6,64	0,11	0,017	51,077
ClaHsp70-05	6	GRMZM2G001500_T01	10	20,67	0,16	0,008	158,993
ClaHsp70-05	6	GRMZM2G111475_T02	5	5,30	0,07	0,013	40,804
ClaHsp70-06	9	GRMZM2G063676_T01	8	7,23	0,18	0,025	55,632
ClaHsp70-06	9	GRMZM2G023232_T01	6	6,63	0,16	0,024	51,019
ClaHsp70-06	9	GRMZM2G361605_T01	6	8,00	0,19	0,024	61,557
ClaHsp70-06	9	GRMZM2G361605_T02	6	8,17	0,19	0,023	62,825
ClaHsp70-07	9	GRMZM2G111475_T01	5	3,54	0,12	0,032	27,222
ClaHsp70-07	9	GRMZM2G079668_T02	1	3,54	0,12	0,033	27,213
ClaHsp70-07	9	GRMZM2G079668_T01	1	3,54	0,12	0,033	27,209
ClaHsp70-07	9	GRMZM2G001500_T02	10	11,13	0,14	0,012	85,632
ClaHsp70-07	9	GRMZM2G001500_T01	10	46,34	0,18	0,004	356,459
ClaHsp70-07	9	GRMZM2G153815_T01	5	48,27	0,43	0,009	371,288
ClaHsp70-07	9	GRMZM2G365374_T01	2	49,37	0,46	0,009	379,779
ClaHsp70-07	9	GRMZM2G111475_T02	5	4,34	0,12	0,027	33,391
ClaHsp70-08	9	GRMZM2G056039_T01	1	10,42	0,04	0,004	80,128
ClaHsp70-08	9	GRMZM2G340251_T02	3	10,97	0,04	0,004	84,365
ClaHsp70-08	9	GRMZM2G340251_T01	3	11,08	0,04	0,004	85,199
ClaHsp70-08	9	GRMZM5G802801_T01	8	32,02	0,04	0,001	246,270

EK-22'nin devamı,

ClaHsp70-08	9	GRMZM2G428391_T01	1	17,60	0,04	0,002	135,385
ClaHsp70-08	9	AC209784.3_FGT007	3	34,71	0,04	0,001	267,038
ClaHsp70-08	9	GRMZM2G310431_T01	8	31,61	0,04	0,001	243,146
ClaHsp70-08	9	GRMZM2G366532_T02	9	41,67	0,06	0,001	320,539
ClaHsp70-08	9	GRMZM2G366532_T01	9	62,14	0,06	0,001	478,033
ClaHsp70-08	9	GRMZM2G428391_T02	1	22,34	0,08	0,003	171,847
ClaHsp70-08	9	GRMZM2G340251_T04	3	20,80	0,08	0,004	159,982
ClaHsp70-09	9	GRMZM2G428391_T02	1	40,21	0,07	0,002	309,318
ClaHsp70-09	9	GRMZM2G340251_T02	3	4,70	0,04	0,008	36,179
ClaHsp70-09	9	GRMZM5G802801_T01	8	38,75	0,04	0,001	298,113
ClaHsp70-09	9	GRMZM2G340251_T01	3	4,70	0,04	0,008	36,172
ClaHsp70-09	9	GRMZM2G056039_T01	1	5,15	0,04	0,008	39,615
ClaHsp70-09	9	AC209784.3_FGT007	3	41,22	0,04	0,001	317,080
ClaHsp70-09	9	GRMZM2G310431_T01	8	42,55	0,04	0,001	327,336
ClaHsp70-09	9	GRMZM2G366532_T02	9	53,50	0,05	0,001	411,516
ClaHsp70-09	9	GRMZM2G415007_T01	4	55,72	0,26	0,005	428,585
ClaHsp70-09	9	GRMZM2G114793_T01	5	55,93	0,26	0,005	430,205
ClaHsp70-09	9	GRMZM2G106429_T01	4	6,81	0,16	0,024	52,388
ClaHsp70-09	9	GRMZM2G145275_T01	1	24,10	0,20	0,008	185,412
ClaHsp70-10	10	GRMZM2G153815_T01	5	5,02	0,09	0,018	38,608
ClaHsp70-10	10	GRMZM2G365374_T01	2	50,93	0,14	0,003	391,734
ClaHsp70-10	10	GRMZM2G111475_T01	5	48,24	0,42	0,009	371,053
ClaHsp70-10	10	GRMZM2G079668_T02	1	47,99	0,42	0,009	369,189
ClaHsp70-10	10	GRMZM2G001500_T02	10	32,33	0,43	0,013	248,677
ClaHsp70-11	11	GRMZM2G310431_T01	8	31,44	0,07	0,002	241,838
ClaHsp70-11	11	AC209784.3_FGT007	3	37,50	0,08	0,002	288,498
ClaHsp70-11	11	GRMZM5G802801_T01	8	33,82	0,07	0,002	260,189
ClaHsp70-11	11	GRMZM2G366532_T02	9	35,54	0,07	0,002	273,412
ClaHsp70-11	11	GRMZM2G340251_T02	3	22,97	0,09	0,004	176,692
ClaHsp70-11	11	GRMZM2G428391_T01	1	48,82	0,09	0,002	375,548
ClaHsp70-11	11	GRMZM2G056039_T01	1	13,68	0,09	0,007	105,252
ClaHsp70-11	11	GRMZM2G106429_T01	4	14,70	0,19	0,013	113,077
ClaHsp70-11	11	GRMZM2G114793_T01	5	56,03	0,28	0,005	430,989
ClaHsp70-11	11	GRMZM2G415007_T01	4	55,87	0,28	0,005	429,759
ClaHsp70-11	11	GRMZM2G145275_T01	1	28,38	0,22	0,008	218,297
ClaHsp70-12	11	GRMZM2G020040_T01	5	18,23	0,30	0,017	140,222
ClaHsp70-12	11	GRMZM2G158093_T01	4	50,35	0,33	0,007	387,315
Ortalama				29,85	0,16	0,009	229,649

EK-23 *ClaHsp90* genlerinin Arabidopsis, Soya, Çeltik, Kavak, Asma ve Mısır ile ortolog ilişkisi

Karpuz-Arabidopsis							
Protein Adı	Kromozom	Gen Adı	Kromozom	Ks	Ka	Ka/Ks	Myö
ClaHsp90-01	1	AT3G07770.1	3	19,09	0,26	0,013	146,859
ClaHsp90-01	1	AT2G04030.1	2	3,31	0,09	0,026	25,472
ClaHsp90-01	1	AT2G04030.2	2	3,31	0,09	0,026	25,456
ClaHsp90-01	1	AT5G52640.1	5	10,30	0,49	0,047	79,257
ClaHsp90-01	1	AT4G24190.1	4	40,01	0,54	0,013	307,781
ClaHsp90-01	1	AT4G24190.2	4	52,35	0,53	0,010	402,722
ClaHsp90-01	1	AT5G56030.1	5	15,07	0,49	0,032	115,956
ClaHsp90-01	1	AT5G56000.1	5	13,92	0,49	0,035	107,099
ClaHsp90-01	1	AT5G56010.1	5	14,44	0,49	0,034	111,092
ClaHsp90-02	2	AT3G07770.1	3	2,00	0,10	0,050	15,369
ClaHsp90-02	2	AT2G04030.1	2	45,14	0,22	0,005	347,212
ClaHsp90-02	2	AT2G04030.2	2	47,89	0,22	0,005	368,355
ClaHsp90-03	3	AT5G56000.1	5	2,47	0,03	0,014	18,984
ClaHsp90-03	3	AT5G56030.1	5	2,09	0,03	0,015	16,078
ClaHsp90-03	3	AT5G56010.1	5	2,61	0,03	0,013	20,049
ClaHsp90-03	3	AT5G56030.2	5	2,09	0,03	0,015	16,078
ClaHsp90-03	3	AT5G52640.1	5	31,18	0,07	0,002	239,816
ClaHsp90-04	3	AT5G56000.1	5	2,47	0,03	0,014	18,985
ClaHsp90-04	3	AT5G56030.1	5	2,09	0,03	0,015	16,079
ClaHsp90-04	3	AT5G56010.1	5	2,61	0,03	0,013	20,045
ClaHsp90-04	3	AT5G56030.2	5	2,09	0,03	0,015	16,077
ClaHsp90-04	3	AT5G52640.1	5	30,20	0,07	0,002	232,312
ClaHsp90-05	3	AT5G56000.1	5	2,51	0,03	0,013	19,337
ClaHsp90-05	3	AT5G56030.1	5	2,10	0,03	0,014	16,135
ClaHsp90-05	3	AT5G56010.1	5	2,56	0,03	0,013	19,656
ClaHsp90-05	3	AT5G56030.2	5	2,10	0,03	0,014	16,135
ClaHsp90-05	3	AT5G52640.1	5	32,38	0,07	0,002	249,039
ClaHsp90-06	8	AT4G24190.2	4	2,43	0,12	0,051	18,665
ClaHsp90-06	8	AT4G24190.1	4	2,50	0,12	0,050	19,229
ClaHsp90-06	8	AT5G52640.1	5	52,58	0,43	0,008	404,454
Ortalama				14,86	0,18	0,019	114,326

Karpuz-Soya							
Protein Adı	Kromozom	Gen Adı	Kromozom	Ks	Ka	Ka/Ks	Myö
ClaHsp90-01	1	Glyma.02G124500.1	2	1,401	0,072	0,0511	10,7769
ClaHsp90-01	1	Glyma.01G068000.1	1	1,327	0,077	0,0580	10,2038

EK-23'ün devamı,

ClaHsp90-01	1	Glyma.02G305600.1	2	15,664	0,221	0,0141	120,4892
ClaHsp90-01	1	Glyma.14G007700.1	14	11,414	0,231	0,0203	87,8023
ClaHsp90-01	1	Glyma.09G131500.1	9	18,732	0,470	0,0251	144,0900
ClaHsp90-01	1	Glyma.16G178800.2	16	20,970	0,475	0,0226	161,3069
ClaHsp90-01	1	Glyma.16G178800.1	16	20,920	0,475	0,0227	160,9238
ClaHsp90-02	2	Glyma.14G007700.1	14	1,502	0,076	0,0503	11,5546
ClaHsp90-02	2	Glyma.02G305600.1	2	1,500	0,082	0,0549	11,5369
ClaHsp90-02	2	Glyma.02G124500.1	2	12,092	0,215	0,0178	93,0177
ClaHsp90-02	2	Glyma.01G068000.1	1	16,409	0,222	0,0135	126,2238
ClaHsp90-03	3	Glyma.08G332900.1	8	2,481	0,022	0,0087	19,0815
ClaHsp90-03	3	Glyma.14G011600.1	14	2,077	0,026	0,0124	15,9746
ClaHsp90-03	3	Glyma.02G302500.1	2	1,856	0,025	0,0136	14,2792
ClaHsp90-03	3	Glyma.18G074100.1	18	2,406	0,022	0,0090	18,5054
ClaHsp90-03	3	Glyma.09G131500.1	9	25,338	0,066	0,0026	194,9077
ClaHsp90-03	3	Glyma.16G178800.2	16	26,855	0,067	0,0025	206,5785
ClaHsp90-03	3	Glyma.16G178800.1	16	25,950	0,067	0,0026	199,6185
ClaHsp90-03	3	Glyma.08G032900.1	8	2,484	0,124	0,0499	19,1092
ClaHsp90-03	3	Glyma.08G032900.2	8	2,345	0,083	0,0354	18,0377
ClaHsp90-03	3	Glyma.08G032900.4	8	2,345	0,083	0,0354	18,0377
ClaHsp90-03	3	Glyma.08G032900.3	8	2,922	0,104	0,0355	22,4738
ClaHsp90-04	3	Glyma.08G332900.1	8	2,481	0,022	0,0087	19,0815
ClaHsp90-04	3	Glyma.14G011600.1	14	2,077	0,026	0,0124	15,9754
ClaHsp90-04	3	Glyma.02G302500.1	2	1,856	0,025	0,0136	14,2792
ClaHsp90-04	3	Glyma.18G074100.1	18	2,406	0,022	0,0090	18,5077
ClaHsp90-04	3	Glyma.09G131500.1	9	25,159	0,066	0,0026	193,5308
ClaHsp90-04	3	Glyma.16G178800.2	16	27,267	0,067	0,0025	209,7431
ClaHsp90-04	3	Glyma.16G178800.1	16	26,330	0,067	0,0026	202,5385
ClaHsp90-04	3	Glyma.08G032900.1	8	2,484	0,124	0,0499	19,1085
ClaHsp90-04	3	Glyma.08G032900.2	8	2,345	0,083	0,0354	18,0377
ClaHsp90-04	3	Glyma.08G032900.4	8	2,345	0,083	0,0354	18,0377
ClaHsp90-04	3	Glyma.08G032900.3	8	2,922	0,104	0,0355	22,4731
ClaHsp90-05	3	Glyma.08G332900.1	8	2,403	0,022	0,0090	18,4862
ClaHsp90-05	3	Glyma.14G011600.1	14	1,977	0,026	0,0129	15,2092
ClaHsp90-05	3	Glyma.02G302500.1	2	1,835	0,025	0,0137	14,1146

EK-23'ün devamı,

ClaHsp90-05	3	Glyma.18G074100.1	18	2,211	0,022	0,0098	17,0092
ClaHsp90-05	3	Glyma.09G131500.1	9	25,960	0,065	0,0025	199,6885
ClaHsp90-05	3	Glyma.16G178800.2	16	24,546	0,066	0,0027	188,8162
ClaHsp90-05	3	Glyma.16G178800.1	16	24,384	0,066	0,0027	187,5723
ClaHsp90-05	3	Glyma.08G032900.1	8	2,377	0,125	0,0527	18,2854
ClaHsp90-05	3	Glyma.08G032900.2	8	2,269	0,084	0,0371	17,4562
ClaHsp90-05	3	Glyma.08G032900.4	8	2,269	0,084	0,0371	17,4554
ClaHsp90-05	3	Glyma.08G032900.3	8	2,750	0,106	0,0384	21,1562
ClaHsp90-06	8	Glyma.14G219700.4	14	1,804	0,073	0,0406	13,8777
ClaHsp90-06	8	Glyma.14G219700.1	14	1,804	0,073	0,0406	13,8785
ClaHsp90-06	8	Glyma.14G219700.3	14	1,797	0,072	0,0399	13,8223
ClaHsp90-06	8	Glyma.17G258700.1	17	1,611	0,074	0,0459	12,3946
ClaHsp90-06	8	Glyma.17G258700.2	17	1,611	0,074	0,0457	12,3946
ClaHsp90-06	8	Glyma.16G178800.2	16	53,978	0,433	0,0080	415,2185
ClaHsp90-06	8	Glyma.16G178800.1	16	53,977	0,433	0,0080	415,2077
ClaHsp90-06	8	Glyma.14G219700.2	14	2,006	0,071	0,0356	15,4315
Ortalama				10,158	0,115	0,024	78,14

Karpuz-Çeltik							
Protein Adı	Kromozom	Gen Adı	Kromozom	Ks	Ka	Ka/Ks	Myö
ClaHsp90-01	1	LOC_Os09g29840.1	9	3,80	0,12	0,033	29,241
ClaHsp90-01	1	LOC_Os08g38086.3	8	3,33	0,12	0,035	25,624
ClaHsp90-01	1	LOC_Os08g38086.4	8	3,03	0,09	0,030	23,303
ClaHsp90-01	1	LOC_Os12g32986.1	12	11,07	0,25	0,022	85,151
ClaHsp90-01	1	LOC_Os09g29840.2	9	30,27	0,20	0,007	232,838
ClaHsp90-02	2	LOC_Os12g32986.1	12	3,87	0,15	0,038	29,791
ClaHsp90-02	2	LOC_Os09g29840.1	9	12,70	0,22	0,017	97,693
ClaHsp90-02	2	LOC_Os08g38086.3	8	8,26	0,22	0,027	63,502
ClaHsp90-02	2	LOC_Os08g38086.4	8	5,28	0,19	0,036	40,592
ClaHsp90-02	2	LOC_Os09g29840.2	9	57,84	0,30	0,005	444,928
ClaHsp90-03	3	LOC_Os08g39140.1	8	7,73	0,04	0,005	59,467
ClaHsp90-03	3	LOC_Os09g30412.1	9	3,37	0,04	0,013	25,948
ClaHsp90-03	3	LOC_Os09g30418.1	9	3,71	0,05	0,012	28,535
ClaHsp90-03	3	LOC_Os08g39140.2	8	8,71	0,04	0,005	66,978
ClaHsp90-03	3	LOC_Os04g01740.1	4	38,34	0,09	0,002	294,931

EK-23'ün devamı,

ClaHsp90-03	3	LOC_Os08g39140.3	8	11,13	0,04	0,003	85,650
ClaHsp90-03	3	LOC_Os08g39140.4	8	2,77	0,06	0,022	21,301
ClaHsp90-04	3	LOC_Os08g39140.1	8	7,73	0,04	0,005	59,426
ClaHsp90-04	3	LOC_Os09g30412.1	9	3,37	0,04	0,013	25,947
ClaHsp90-04	3	LOC_Os09g30418.1	9	3,71	0,05	0,012	28,545
ClaHsp90-04	3	LOC_Os08g39140.2	8	8,71	0,04	0,005	66,979
ClaHsp90-04	3	LOC_Os04g01740.1	4	43,83	0,09	0,002	337,145
ClaHsp90-04	3	LOC_Os08g39140.3	8	10,93	0,04	0,003	84,108
ClaHsp90-04	3	LOC_Os08g39140.4	8	2,77	0,06	0,022	21,302
ClaHsp90-05	3	LOC_Os08g39140.1	8	9,37	0,04	0,004	72,057
ClaHsp90-05	3	LOC_Os09g30412.1	9	3,48	0,04	0,012	26,786
ClaHsp90-05	3	LOC_Os09g30418.1	9	3,84	0,04	0,011	29,568
ClaHsp90-05	3	LOC_Os08g39140.2	8	8,84	0,04	0,005	67,988
ClaHsp90-05	3	LOC_Os04g01740.1	4	40,64	0,09	0,002	312,632
ClaHsp90-05	3	LOC_Os08g39140.3	8	12,05	0,04	0,003	92,714
ClaHsp90-05	3	LOC_Os08g39140.4	8	3,17	0,06	0,019	24,399
ClaHsp90-06	8	LOC_Os06g50300.1	6	2,78	0,12	0,043	21,355
Ortalama				11,89	0,10	0,015	91,451

Karpuz-Kavak							
Protein Adı	Kromozom	Gen Adı	Kromozom	Ks	Ka	Ka/Ks	Myö
ClaHsp90-01	1	Potri.008G112700.1	8	1,51	0,07	0,046	11,605
ClaHsp90-01	1	Potri.010G136800.1	10	1,53	0,08	0,053	11,805
ClaHsp90-01	1	Potri.008G112700.3	8	1,51	0,07	0,046	11,647
ClaHsp90-01	1	Potri.008G112700.2	8	1,58	0,06	0,036	12,188
ClaHsp90-01	1	Potri.010G136800.2	10	1,53	0,09	0,056	11,792
ClaHsp90-01	1	Potri.010G136800.3	10	1,59	0,09	0,054	12,262
ClaHsp90-01	1	Potri.014G164900.2	14	7,01	0,23	0,033	53,925
ClaHsp90-01	1	Potri.014G164900.3	14	6,94	0,23	0,033	53,365
ClaHsp90-01	1	Potri.014G164900.1	14	6,55	0,23	0,035	50,379
ClaHsp90-01	1	Potri.014G164900.6	14	7,72	0,18	0,024	59,385
ClaHsp90-01	1	Potri.014G164900.5	14	13,82	0,22	0,016	106,278
ClaHsp90-01	1	Potri.014G164900.4	14	7,22	0,23	0,031	55,509
ClaHsp90-01	1	Potri.014G164900.7	14	6,87	0,23	0,033	52,883
ClaHsp90-01	1	Potri.008G112700.4	8	1,65	0,06	0,034	12,672
ClaHsp90-02	2	Potri.014G164900.3	14	1,39	0,07	0,050	10,708
ClaHsp90-02	2	Potri.014G164900.2	14	1,39	0,07	0,050	10,712
ClaHsp90-02	2	Potri.014G164900.1	14	1,39	0,07	0,050	10,708

EK-23'ün devamı,

ClaHsp90-02	2	Potri.014G164900.6	14	1,39	0,05	0,034	10,705
ClaHsp90-02	2	Potri.014G164900.5	14	1,60	0,08	0,047	12,344
ClaHsp90-02	2	Potri.014G164900.4	14	1,45	0,08	0,056	11,157
ClaHsp90-02	2	Potri.014G164900.7	14	1,45	0,08	0,056	11,157
ClaHsp90-02	2	Potri.010G136800.1	10	13,53	0,21	0,016	104,068
ClaHsp90-02	2	Potri.008G112700.1	8	7,86	0,22	0,028	60,442
ClaHsp90-02	2	Potri.008G112700.3	8	10,07	0,21	0,021	77,445
ClaHsp90-02	2	Potri.008G112700.2	8	5,27	0,19	0,036	40,576
ClaHsp90-02	2	Potri.010G136800.2	10	23,83	0,22	0,009	183,281
ClaHsp90-02	2	Potri.010G136800.3	10	18,38	0,22	0,012	141,352
ClaHsp90-02	2	Potri.008G112700.4	8	3,97	0,19	0,049	30,507
ClaHsp90-03	3	Potri.001G466000.1	1	2,44	0,03	0,012	18,785
ClaHsp90-03	3	Potri.001G466000.2	1	2,44	0,03	0,012	18,785
ClaHsp90-03	3	Potri.016G003400.1	16	2,98	0,03	0,011	22,941
ClaHsp90-03	3	Potri.006G002800.1	6	2,75	0,04	0,013	21,136
ClaHsp90-03	3	Potri.001G286700.1	1	2,50	0,03	0,013	19,228
ClaHsp90-03	3	Potri.017G146600.1	17	17,97	0,08	0,004	138,234
ClaHsp90-03	3	Potri.017G146600.2	17	18,47	0,08	0,004	142,109
ClaHsp90-03	3	Potri.004G073600.1	4	36,38	0,08	0,002	279,828
ClaHsp90-03	3	Potri.001G466000.4	1	2,48	0,04	0,015	19,052
ClaHsp90-03	3	Potri.016G003400.3	16	2,47	0,07	0,029	18,979
ClaHsp90-03	3	Potri.006G002800.2	6	2,63	0,08	0,031	20,230
ClaHsp90-03	3	Potri.016G003400.2	16	3,30	0,06	0,018	25,365
ClaHsp90-03	3	Potri.001G466000.3	1	2,91	0,07	0,023	22,402
ClaHsp90-03	3	Potri.001G286700.3	1	2,22	0,05	0,022	17,055
ClaHsp90-03	3	Potri.001G286700.2	1	2,02	0,04	0,021	15,535
ClaHsp90-04	3	Potri.001G466000.1	1	2,44	0,03	0,012	18,785
ClaHsp90-04	3	Potri.001G466000.2	1	2,44	0,03	0,012	18,786
ClaHsp90-04	3	Potri.016G003400.1	16	2,98	0,03	0,011	22,946
ClaHsp90-04	3	Potri.006G002800.1	6	2,75	0,04	0,013	21,135
ClaHsp90-04	3	Potri.001G286700.1	1	2,50	0,03	0,013	19,230
ClaHsp90-04	3	Potri.017G146600.1	17	18,80	0,08	0,004	144,649
ClaHsp90-04	3	Potri.017G146600.2	17	17,97	0,08	0,004	138,202
ClaHsp90-04	3	Potri.004G073600.1	4	36,17	0,08	0,002	278,202
ClaHsp90-04	3	Potri.001G466000.4	1	2,48	0,04	0,015	19,052
ClaHsp90-04	3	Potri.016G003400.3	16	2,47	0,07	0,029	18,978
ClaHsp90-04	3	Potri.006G002800.2	6	2,63	0,08	0,031	20,229
ClaHsp90-04	3	Potri.016G003400.2	16	3,30	0,06	0,018	25,365
ClaHsp90-04	3	Potri.001G466000.3	1	2,91	0,07	0,023	22,401
ClaHsp90-04	3	Potri.001G286700.3	3	2,22	0,05	0,022	17,055
ClaHsp90-04	3	Potri.001G286700.2	1	2,02	0,04	0,021	15,534

EK-23'ün devamı,

ClaHsp90-05	3	Potri.001G466000.1	1	2,25	0,03	0,013	17,282
ClaHsp90-05	3	Potri.001G466000.2	1	2,25	0,03	0,013	17,282
ClaHsp90-05	3	Potri.016G003400.1	16	2,87	0,03	0,011	22,092
ClaHsp90-05	3	Potri.006G002800.1	6	2,75	0,03	0,012	21,153
ClaHsp90-05	3	Potri.001G286700.1	1	2,40	0,03	0,013	18,431
ClaHsp90-05	3	Potri.017G146600.1	17	20,89	0,08	0,004	160,714
ClaHsp90-05	3	Potri.017G146600.2	17	21,33	0,08	0,004	164,078
ClaHsp90-05	3	Potri.004G073600.1	4	43,95	0,08	0,002	338,043
ClaHsp90-05	3	Potri.001G466000.4	1	2,43	0,04	0,015	18,698
ClaHsp90-05	3	Potri.016G003400.3	16	2,40	0,07	0,029	18,443
ClaHsp90-05	3	Potri.006G002800.2	6	2,80	0,08	0,029	21,527
ClaHsp90-05	3	Potri.016G003400.2	16	3,34	0,06	0,018	25,676
ClaHsp90-05	3	Potri.001G466000.3	1	2,56	0,07	0,026	19,677
ClaHsp90-05	3	Potri.001G286700.3	1	2,13	0,05	0,023	16,348
ClaHsp90-05	3	Potri.001G286700.2	1	1,95	0,04	0,021	15,025
ClaHsp90-06	8	Potri.005G241100.3	5	1,51	0,07	0,043	11,584
ClaHsp90-06	8	Potri.005G241100.4	5	1,71	0,08	0,047	13,123
ClaHsp90-06	8	Potri.005G241100.2	5	1,59	0,06	0,040	12,253
ClaHsp90-06	8	Potri.005G241100.1	5	1,68	0,08	0,048	12,904
Ortalama				6,37	0,09	0,025	49,031

Karpuz-Üzüm							
Protein Adı	Kromozom	Gen Adı	Kromozom	Ks	Ka	Ka/Ks	Myö
ClaHsp90-01	1	GSVIVT01010120001	1	1,27	0,08	0,059	9,76
ClaHsp90-01	1	GSVIVT01030056001	12	11,05	0,22	0,020	85,04
ClaHsp90-02	2	GSVIVT01030056001	12	1,27	0,08	0,065	9,76
ClaHsp90-02	2	GSVIVT01010120001	1	54,72	0,22	0,004	420,88
ClaHsp90-03	3	GSVIVT01003469001	scaffold	3,62	0,03	0,009	27,82
ClaHsp90-03	3	GSVIVT01028856001	16	25,79	0,07	0,003	198,40
ClaHsp90-04	3	GSVIVT01003469001	scaffold	3,62	0,03	0,009	27,83
ClaHsp90-04	3	GSVIVT01028856001	16	24,84	0,07	0,003	191,07
ClaHsp90-05	3	GSVIVT01003469001	scaffold	3,92	0,03	0,008	30,17
ClaHsp90-05	3	GSVIVT01028856001	16	27,58	0,07	0,002	212,15
ClaHsp90-06	8	GSVIVT01009931001	18	1,84	0,09	0,047	14,18
Ortalama				14,50	0,09	0,021	111,55

EK-23'ün devamı,

Karpuz-Mısır							
Protein Adı	Kromozom	Gen Adı	Kromozom	Ks	Ka	Ka/Ks	Myö
ClaHsp90-01	1	GRMZM5G813217_T03	7	3,08	0,09	0,029	23,67
ClaHsp90-01	1	GRMZM2G002220_T01	4	3,21	0,12	0,037	24,73
ClaHsp90-01	1	GRMZM5G813217_T01	7	4,13	0,13	0,032	31,79
ClaHsp90-01	1	GRMZM5G813217_T02	7	4,21	0,13	0,032	32,41
ClaHsp90-02	2	GRMZM5G813217_T03	7	22,29	0,18	0,008	171,44
ClaHsp90-02	2	GRMZM5G813217_T01	7	56,65	0,22	0,004	435,77
ClaHsp90-02	2	GRMZM2G002220_T01	4	45,50	0,22	0,005	349,98
ClaHsp90-02	2	GRMZM5G813217_T02	7	56,16	0,22	0,004	432,01
ClaHsp90-03	3	GRMZM2G112165_T01	2	19,87	0,04	0,002	152,85
ClaHsp90-03	3	GRMZM2G012631_T01	4	13,12	0,04	0,003	100,94
ClaHsp90-03	3	GRMZM2G069651_T01	7	16,35	0,04	0,003	125,73
ClaHsp90-03	3	GRMZM5G833699_T01	10	70,03	0,09	0,001	538,71
ClaHsp90-03	3	GRMZM2G069651_T02	7	33,27	0,07	0,002	255,95
ClaHsp90-03	3	GRMZM2G069651_T05	7	5,33	0,04	0,007	40,97
ClaHsp90-03	3	GRMZM2G024668_T01	1	2,52	0,04	0,016	19,42
ClaHsp90-03	3	GRMZM2G024668_T02	1	2,52	0,04	0,016	19,42
ClaHsp90-04	3	GRMZM2G112165_T01	2	19,37	0,04	0,002	148,99
ClaHsp90-04	3	GRMZM2G012631_T01	4	13,18	0,04	0,003	101,36
ClaHsp90-04	3	GRMZM2G069651_T01	7	15,93	0,04	0,003	122,55
ClaHsp90-04	3	GRMZM5G833699_T01	10	75,91	0,09	0,001	583,89
ClaHsp90-04	3	GRMZM2G069651_T02	7	39,65	0,07	0,002	304,97
ClaHsp90-04	3	GRMZM2G069651_T05	7	5,34	0,04	0,007	41,07
ClaHsp90-04	3	GRMZM2G024668_T01	1	2,52	0,04	0,016	19,42
ClaHsp90-04	3	GRMZM2G024668_T02	1	2,53	0,04	0,016	19,42
ClaHsp90-05	3	GRMZM2G112165_T01	2	22,03	0,04	0,002	169,48
ClaHsp90-05	3	GRMZM2G069651_T01	7	17,44	0,04	0,002	134,17
ClaHsp90-05	3	GRMZM2G012631_T01	4	14,99	0,04	0,003	115,32
ClaHsp90-05	3	GRMZM5G833699_T01	10	62,21	0,09	0,001	478,52
ClaHsp90-05	3	GRMZM2G069651_T02	7	36,78	0,07	0,002	282,89
ClaHsp90-05	3	GRMZM2G069651_T05	7	16,90	0,04	0,002	129,98
ClaHsp90-05	3	GRMZM2G024668_T01	1	2,79	0,04	0,014	21,43
ClaHsp90-06	8	GRMZM2G141931_T01	6	4,47	0,12	0,026	34,38
ClaHsp90-06	8	GRMZM2G399073_T03	5	4,27	0,12	0,029	32,87
ClaHsp90-06	8	GRMZM2G399073_T02	5	4,73	0,13	0,028	36,42
ClaHsp90-06	8	GRMZM2G141931_T04	6	4,46	0,11	0,025	34,30
ClaHsp90-06	8	GRMZM2G141931_T03	6	5,24	0,11	0,020	40,33
ClaHsp90-06	8	GRMZM2G141931_T02	6	5,03	0,11	0,023	38,70
Ortalama				19,84	0,09	0,012	152,60

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Merve KELEŞ
Doğum Yeri ve Yılı : Kastamonu, 1991
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : caferoglumerve@gmail.com



Eğitim Durumu

Lise : Prof. Dr. Saime İnal Savi Lisesi (2005-2009)
Lisans : Fırat Üniversitesi / Biyomühendislik (2010-2014)
Yüksek Lisans : Kastamonu Üniversitesi / Genetik ve Biyomühendislik (2016-)

Ulusal ve Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan Bildiriler

- ICAFOF 2017 (International Conference on Agriculture, Forest, Food Science) – Mayıs 2017
Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi tarafından, Nevşehir / Kapadokya'da düzenlenen International Conference on Agriculture, Forest, Food Science and Technologies Kongresinde Sözlü sunum.
- 19. Uluslararası Katılımlı Ulusal Biyoteknoloji Kongresi'nde '**Karpuz Genomunda HSP70 Gen Ailesinin Biyoinformatik Karakterizasyonu**' isimli Sözlü sunum
Eskişehir, Aralık 2017
- Yasemin CELİK ALTUNOĞLU, Merve CAFEROĞLU '**Genome-Wide Determination Of Hsp60 Genes In Watermelon (Citrullus Lanatus)**'
International Science and Technology Conference (ISTEC 2017 EUROPE), 17-19 Haziran, 2017 Berlin, Almanya

Kitaplar Ve Bölümler

- Mehmet Cengiz BALOĞLU, Ferhat ULU, Necdet Mehmet ÜNEL, Merve CAFEROĞLU, Tevfik Hasan CAN. “*Gen ve Proteinlerin Biyoinformatik Analizleri*” Biyoinformatik ve Uygulama Alanları. (Değerlendirme aşamasında)

