

GEN HARİTALAMA STRATEJİLERİ Gene Mapping Strategies

Seda ÖRENAY BOYACIOĞLU¹, Munis DÜNDAR²

Özet : Bireylerin sosyal gelişimlerini negatif yönde etkilemesi ve tüm dünyada yaygın olarak görülmesi, genetik tabanlı sendromların ortaya çıkmasında etkin olan genlerin haritalanması ve tanımlanmasına yönelik yapılan çalışmaları hızlandırmıştır. Genetik haritalama, genomun matematiksel analizi olarak bilinir ve genlerin kromozomlar üzerindeki lokalizasyonlarının bulunmasında moleküler yöntemleri ve istatistiksel analizleri kullanır. Bir hastalıktan sorumlu genin saptanmasına yönelik yaklaşımlardan en yaygın olarak kullanılanları, DNA markırlarının hastalıkla ilişkisini test eden bağlantı ve ilişkilendirme çalışmalarıdır. Bağlantı analizi ile aynı kromozom üzerinde birbirine yakın iki yerleşimin anne-babadan çocuğa aktarılırken bir arada geçiş olasılığı hesaplanmaktadır. Bu tip çalışmalar basit Mendelyan geçiş gösteren hastalıkların genetiğini anlamada başarılı olmaktadır. İlişkilendirme ise kalıtım kalıbı tam olarak belirlenemeyen hastalıklarda tercih edilen yöntemdir. Bu yöntemle hasta ve kontrol gruplarında belirli bir genetik markıra ilişkin allellerin frekansları karşılaştırılır. Bu haritalama yöntemleriyle hastalık geninin tanımlanması o genin fonksiyonu ile ilgili hücresel mekanizmaların daha iyi anlaşılmasında bize yardımcı olur ve hastalığın oluşumunu kavramamıza olanak sağlar. Hastalık geninin saptanması ayrıca ilaç üretilmesine, doğum öncesi ve sonrası genetik tanıya da olanak sağlayacaktır.

Anahtar kelimeler:Gen haritalama, bağlantı analizi, ilişkilendirme analizi, genetik markır, LOD skor.

Summary:Genetically determined syndromes are seen worldwide, and affect the social development of individuals negatively. Studies toward detecting and mapping the genes responsible for the genetically determined syndromes have been accelerated. Genetic mapping known as the mathematical analysis of the genome, utilizes molecular techniques and statistical analyses to localize genes on chromosomes. Linkage and association analyses testing the relationship of DNA markers with diseases are the most widely used methods in determining the responsible genes for the diseases. The possibility of co-transfer of two genes or markers that are in close proximity from parents to offspring is calculated via linkage analysis. This type of studies is helpful in understanding the genetics of diseases that show Mendelian inheritance. Association studies are useful in understanding the diseases whose inheritance patterns are not fully known. With this method, allele frequencies of certain genetic markers in patient and control groups are compared. Identification of a disease causing gene through these mapping methods helps us understand the cellular mechanisms related with the function of the gene and the development of the disease. Identification of the disease causing gene will also help us in potential drug development, pre and postnatal genetical diagnoses.

Keywords: Gene mapping, linkage analysis, association analysis, genetic marker, LOD score.

¹ Celal Bayar Üni. Tıp Fak. Tıbbi Genetik AD, Manisa

² Prof.Dr.Erciyes Ün.Tıp Fak.Genetik AD, Kayseri

Geliş Tarihi : 25.01.2011 Kabul Tarihi : 28.03.2012

Genetik haritalama temelde, William Bateson ve Reginald Punnett tarafından yürütülmüş genetik bağlantı çalışmalarına dayanmaktadır. 1911'de Thomas Hunt Morgan'ın *Drosophila* ile yaptığı bağlantı çalışmalarında, bağlantılı genler arasında crossingover oranının farklı olduğunun gözlemi, crossingover sıklığının kromozom üzerindeki genleri arasındaki uzaklığı belirttiği fikrini meydana getirmiştir. İlk genetik haritalama, Morgan'ın öğrencisi Alfred Sturtevant tarafından geliştirilmiştir. Sturtevant iki bağlantılı gen arasındaki mesafe ne kadar çoksa, bu iki gen arasındaki bölgede bir krosingover olma olasılığının da o derece yüksek olacağını öne sürmüştür. Rekombinasyon olaylarını hesaplayarak, genler arasındaki uzaklığı ölçmenin mümkün olabileceği gösterilmiştir (1,2).

Genetik haritalama, 1950'ye kadar insanlarda uygulanmaya başlayamamıştır. 1980'de RFLP'lerin (Restriction Fragment Length Polymorphism) ilk kez açıklanması ile, tüm kromozom haritaları oluşturulmaya çalışılmıştır. Kromozom parçaları ve bir kaç markır içeren bu ilk haritalar, 1980'lerin başlarında yapılmıştır. Tüm kromozom haritaları ancak 1980'lerin sonunda oluşturulmuştur. 1990'ların ortalarına gelindiğinde, araştırma ekiplerinin yeteneklerinin ve istatistiksel analiz yöntemlerinin geliştirilmesi ile, bir takım tüm-genom genetik haritaları oluşturulmuştur. Bu haritalar güncellenip geliştirilerek internet ortamına sunulmuştur (3).

Genetik haritalama, genlerin lokalizasyonları ve fonksiyonlarını arasında bağlantı kurmak için kullanılan istatistiksel bir yöntemdir. Genetik haritalamanın üç temel kuralı vardır:

Rekombinasyon genetik haritalamanın temelini oluşturur.

Kromozom üzerindeki komşu genler nesillere aktarılırken birlikte aktarılırlar.

Hastalık yeni nesillerde her zaman markır gen ile birlikte bulunuyorsa, hastalık geni markır gen ile yakın yerleşimlidir (4).

Temel olarak gen haritalama disiplininde iki strateji vardır.

Parametrik metodlar: Bağlantı analizi olarak bilinen bu metotta, lokalizasyonu bulunmak istenen bir genin, herhangi bir kromozomda bulunması olasılığının, o kromozomda bulunmaması olasılığına oranının logaritması (Logarithm of Odds ratio, LOD Score) alınarak hesaplanır. Bağlantı analizinde başarı sağlanabilmesi için, hastalığın kalıtım kalıbının kesin olarak bilinmesi, markır alleli ile hastalık allelinin, birarada kalıtılıp kalıtılmadığının segregasyonunun yeterince gözlemlenebileceği üç ve daha fazla kuşaklı büyük aileler tercih edilmesi, kalıtım kalıbına göre örnek toplama stratejisinin geliştirilmesi, ailelerde fenokopi ve hastalık penetransının iyi ayrımlanması önemlidir. Bağlantı analizinde kalıtım kalıbının doğru saptanması çok önemlidir. Sonuçta hesaplanan olasılık örneğin analiz sırasında ilgili hastalığın hangi kromozomda bulunduğu, otozomal dominant kalıtım kalıbı varsayımı altında sorguladığında kalıtım kalıbının hatalı olarak tahmin edilmiş olması, sonucun da hatalı olmasına neden olacaktır. Bu nedenle kalıtım kalıbının tam olarak belirlenemediği durumlarda, istatistik analizler, aynı aile için ya farklı kalıtım kalıbı modelleri varsayılarak tekrarlanır ya da parametrik olmayan hesaplamalar kurgulanır (5,6).

Parametrik olmayan metodlar: Hastalık şartlarının, Mendelyan kurallarının uygulanabilmesi için yetersiz olduğu durumlarda tam bir genetik model belirleme zorunluluğu ciddi bir problemdir. Davranış genetikçileri kompleks hastalıklarda yaşadıkları sıkıntılardan sonra yanlış kalıtım modeli ile çalışmaktan endişe duymaktadırlar. Özellikle şizofreni, bipolar bozukluk gibi hastalıklarda bu problemi çözmenin yollarından birisi modelsiz yani parametrik olmayan bağlantı analizleridir. Genel olarak ilişkilendirme analizleri olarak bilinirler. İlişkilendirme çalışmaları için farklı istatistikî analizler önerilmişse de bunların hemen hepsinde hastalıktan etkilenmemiş bireyler dikkate alınmaz, fakat etkilenen bireylerde tespit edilen aynı kromozom segmenti diğer bireylerde de araştırılır. Bu metotta, markır ve örnek sayısı çok olmalı, kontrol bireyler iyi belirlenmelidir (5,7).

Gerek ilişkilendirme gerekse bağlantı analizleri sonucunda elde edilen bilgi bir hastalığın belli bir

kromozomun hangi bölgesinde olduğunun olasılığını verecek bir değerdir. Bu analiz sonucunda hastalığa neden olan gen mutasyonu ya da bölgenin fiziksel özellikleri hakkında bir bilgi edinilmez. Bu nedenle belli bir bölge saptandığı anda yapılacak işlem bölgelere haplotip analizi uygulanarak en olası bölgenin sınırlarını saptamaktır. Bu işleme “fine mapping” işlemi denir. Genellikle tek bir birim olarak kalıtımla geçen, birbirleriyle yakın bağlantılı gen gruplarının allel dizisine haplotip adı verilir. Haplotip ise yukarıdan aşağıya her bir kromozom üzerindeki birden fazla markıra ait dizilenmeyi ifade eder. İlişkilendirme analizleri genellikle vakalar ve kontroller kullanılarak yapıldığı ve çalışmalarda anne-babalar genotiplendirilmemiş oldukları için, haplotip analizi yapmak çok zordur ve bir dizi matematiksel algoritma uygulamasına dayanmaktadır. Sonuçta her durumda tahmini haplotiplerle sonlanır. Birkaç kuşaklı ailelerin varlığı kritik bölgelerin daraltılmasına yönelik olarak haplotip oluşturmada bulunmaz bir fırsattır. Haplotip analizleri SNP (Single Nucleotide Polymorphism) markırları kullanılarak yapılmakta ise de daha çok allel içeren kısa nükleotid tekrarları kullanılarak da yapılabilir. Haplotip analizi yapılırken pedigrinin kurucuları olan anne ve baba alınır. Hasta çocuklardan rastgele seçilen biri anne-baba ile karşılaştırılarak anneden ve babadan kalıtılan allelleri belirlenerek haplotip oluşturulur. Diğer kardeşlerin haplotipi bu vaka ile karşılaştırılarak hastaların aynı kromozomu paylaşıp paylaşmadığı, sağlam kardeşlerinde diğer kromozomu alıp almadığı belirlenir. Haplotip analizi daima kalıtım kalıbı varsayımı altında yapılır (8-10).

Genetik markırlar

Gen haritalama metodunda, kromozom lokalizasyonu hakkında hiçbir ön bilgiye sahip olmadığımız bir hastalığın lokalizasyonunun tahmin edilmesi hedeflenmektedir. Bu tahmin için her şeyden önce, hangi kromozomda lokalize olduğunu kesin olarak bildiğimiz genetik markırlar kullanmaya ihtiyacımız vardır. Bu genetik markırlar doğrudan genlerin içinde olduğu gibi, genlerle hiç ilgisi olmayan DNA parçaları üzerinde de olabilir. Ancak her iki durumda da ortak nokta markırların poli-

morfik nitelik taşımalarıdır. Gen haritalamasında bu “polimorfik markırlar” kullanılmaktadır. İnsan haritalama çalışmalarında iki genel yaklaşım mevcuttur:

1- Hastalık-markır haritalaması: Hastalık genlerinin yerlerinin belirlenmesi için kullanılır.

2- Markır-markır haritalaması: Temel markır haritalarının yapılması için uygulanır. Bu haritalar yüksek çözünürlüklü hastalık-markır haritalarının yapımında, genetik ve fiziksel haritaların ilişkilendirilmesinde yardımcı olmaktadır. Genetik markırlar Mendelyan karakterler olup seçilen herhangi bir bireyin büyük bir olasılıkla heterozigot olmasını sağlayacak kadar da polimorfiktirler. Polimorfik özellikleri (PIC) polymorphism information content - polimorfizm enformasyon içeriği belirler. Polimorfik bir markır kullanıldığında uygun aileler bağlantı analizi için seçilebilirler. Bu aileler ya ilginç bir hastalık taşımaktadır veya haritalama için uygun bir aile kompozisyonuna sahiptirler (11,12).

Oluş mekanizmalarına ve buldukları yerlere göre markır olarak kullanılan polimorfizmler 4 ana grupta incelenebilir:

Kısa DNA baz tekrarları (Short Tandem Repeat Polymorphism, STRP, mikrosatellit): İnsan genom projesi çalışmaları sırasında genom içerisinde iki baz (CACACACA... gibi) yada dört bazlık (GATAGATA... gibi) tekrar bölgeleri olduğu saptanmıştır. İşlevsel önemi bilinmeyen bu bölgelerdeki baz tekrar sayılarının farklı olması kişilerin DNA'larını birbirinden farklı kılar. Bireyin DNA'sı PCR (Polymerase Chain Reaction) ile çoğaltılarak jel üzerinde yüksek elektrik akımı altında yürütülecek olursa tekrar sayılarının farklı olmasına bağlı olarak jel üzerinde farklı bantlanma meydana gelecektir. Tekrar sayısı fazla olan genom parça yavaş ilerleyecek, tekrar sayısı az olan parça ise hızlı ilerleyecektir. Buna bağlı olarak jel üzerinde farklı bantlanma oluşacaktır. Anne, baba ve çocuktan alınan örnekler yan yana yürütüldüğünde çocuğun hangi alleli kimden aldığı tespit etmek mümkün olacaktır. Gen haritalama çalışmalarında yaygın olarak STRP'ler kullanılmaktadır. İnsan genom projesi kapsamında bu özelliğe sahip olan bölgeler saptanmış ve bu bölgelerin PCR ile

çoğaltılmasına olanak sağlayan bölgeye özgü primerler ve bunların yerleri yayınlanmıştır (Şekil 1).

Uzun DNA baz tekrarları (Variable Number Tandem Repeats, VNTR, minisatellit): DNA'nın bazı bölgelerinde blok halinde 9-70 baz çifti ve daha uzun bölgelerin birkaç kopya halinde tekrarladığı görülmüştür. Restriksiyon enzimleri ile kesilen bu bölgeler Southern blot yöntemi ile görünür hale getirildiklerinde bireyler arasındaki farklılıklar ve allellerin aktarılma şekli tespit edilmiş olur. VNTR'ler günümüzde adli tıpta oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır (Şekil 2).

DNA'yı kesen enzimlerin oluşturduğu uzunluk polimorfizmleri (RFLP): Restriksiyon endonükleazları olarak bilinen enzimler DNA'yı 4-6 baz çiftinden oluşan tanıma bölgelerini kullanarak keserler. Enzim tanıma bölgesinde oluşan bir değişiklik, bölgenin enzimlerce tanınmamasına ve kesme işleminin gerçekleşmemesine sebep olur (Şekil 3).

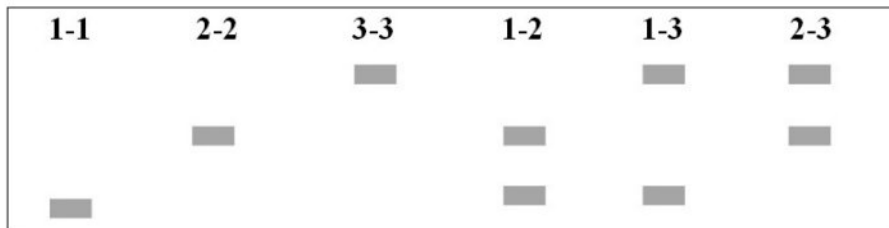
DNA'nın tek bir bazındaki değişiklikler (SNP): Burada genomda tek bir bazın bir başkası ile yer değiştirmesi söz konusudur. Genomun kodlanmayan yerlerinde meydana geldiklerinde tıpkı diğer polimorfizmlerde olduğu gibi farklılıklar oluşturur. Ancak tek bir baz değeri ile yer değiştirdiğinden tespit edilmeleri diğer polimorfizm türlerinde olduğu gibi olamayacaktır (Şekil 4). SNP'ler son yıllarda oldukça güncel hale gelmiştir. Günümüzde üzerinde 1.000.000 polimorfizmin yer aldığı arrayler üretilmiştir. Bu arrayler genomun hızlı ve yüksek çözünürlüklü taranmasına imkân vermektedir (11,13,14).

Bu polimorfik bölgeler, insan genom projesi kapsamında klonlanmış ve kromozom lokalizasyonları, İnsan Polimorfizmlerini Araştırma Merkezi (İPAM) tarafından bir araya getirilen 3 kuşaklı *Centre d'Etudes du Polymorphisme Humaine* (CEPH) ailelerin kullanılmasıyla belirlenmiştir. Bu bilgilerle oluşturulan haritalar kullanılarak (Marsfield, CHLC-Cooperative Human Linkage

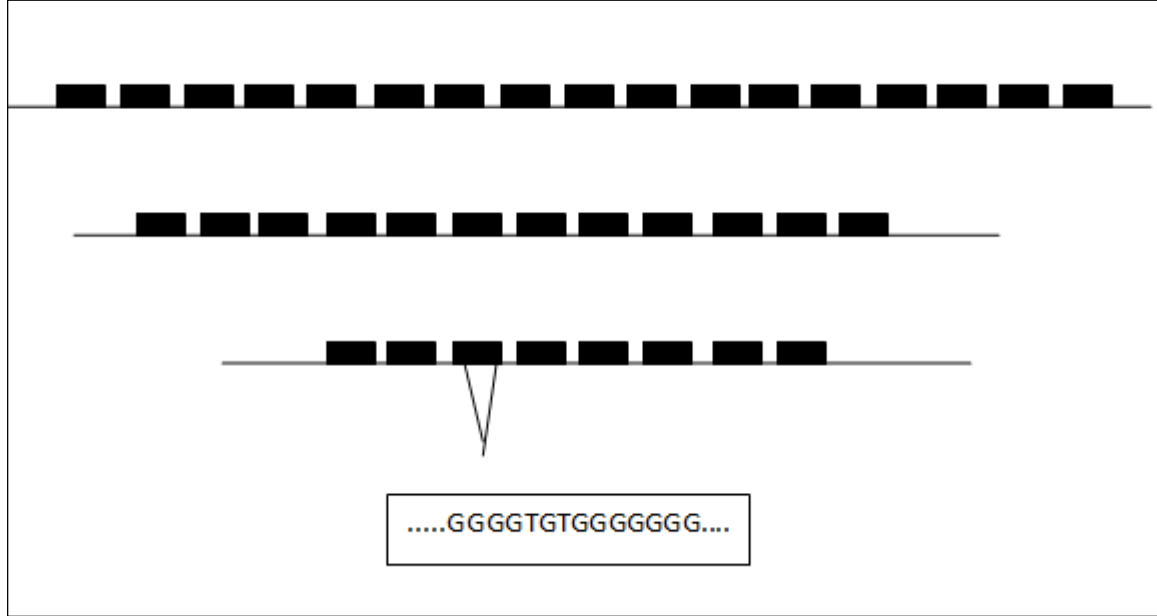
Alleller

- 1 CACACACACACACACACACACA
- 2 CACACACACACACACACACACACACACACACA
- 3 CA

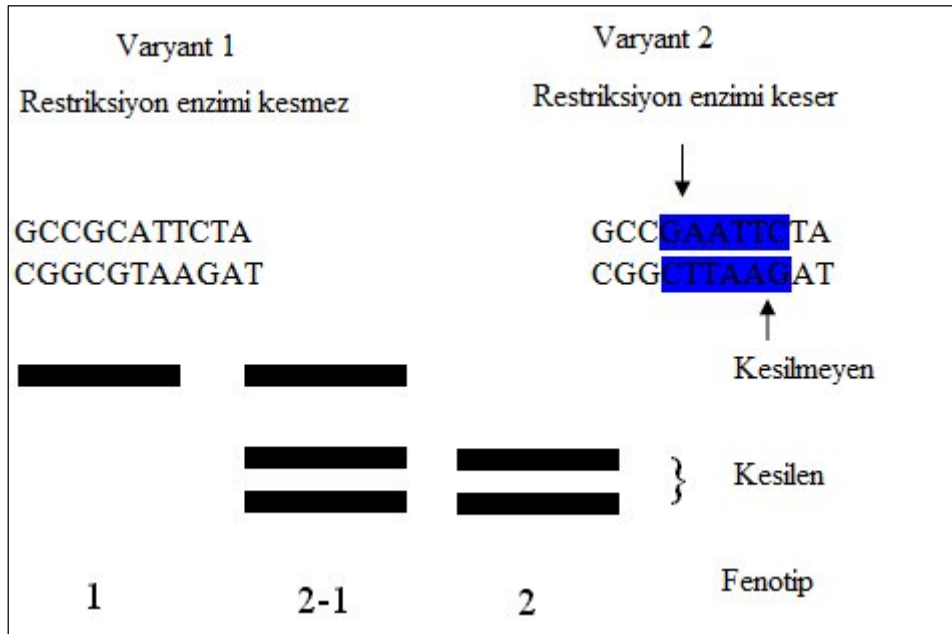
Genotipler



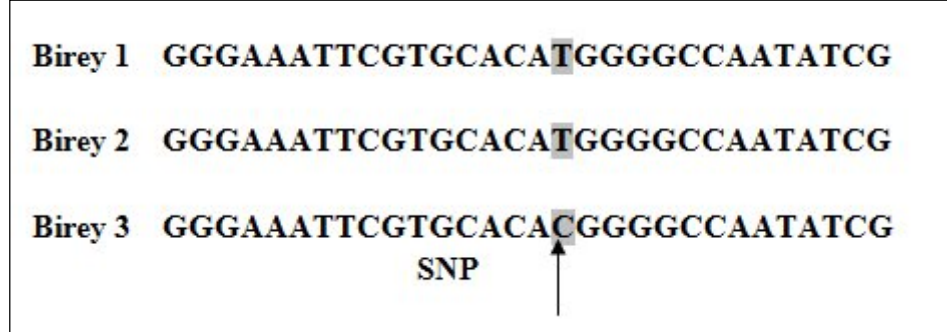
Şekil 1. Mikrosatellit alleller ve saptanması



Şekil 2. VNTR'ler



Şekil 3. RFLP'ler ve saptanması



Şekil 4. SNP

Center, deCODE, Genethon Map, Rutgers Combined Linkage ikinci kuşak genetik haritalar) hangi genetik markırların, gen haritalama çalışmasında kullanılacağına karar verilir (15,16). Markır haritalarındaki bilgiler kullanılarak yapılacak bir gen haritalaması için başlıca 4 yol seçilebilir:

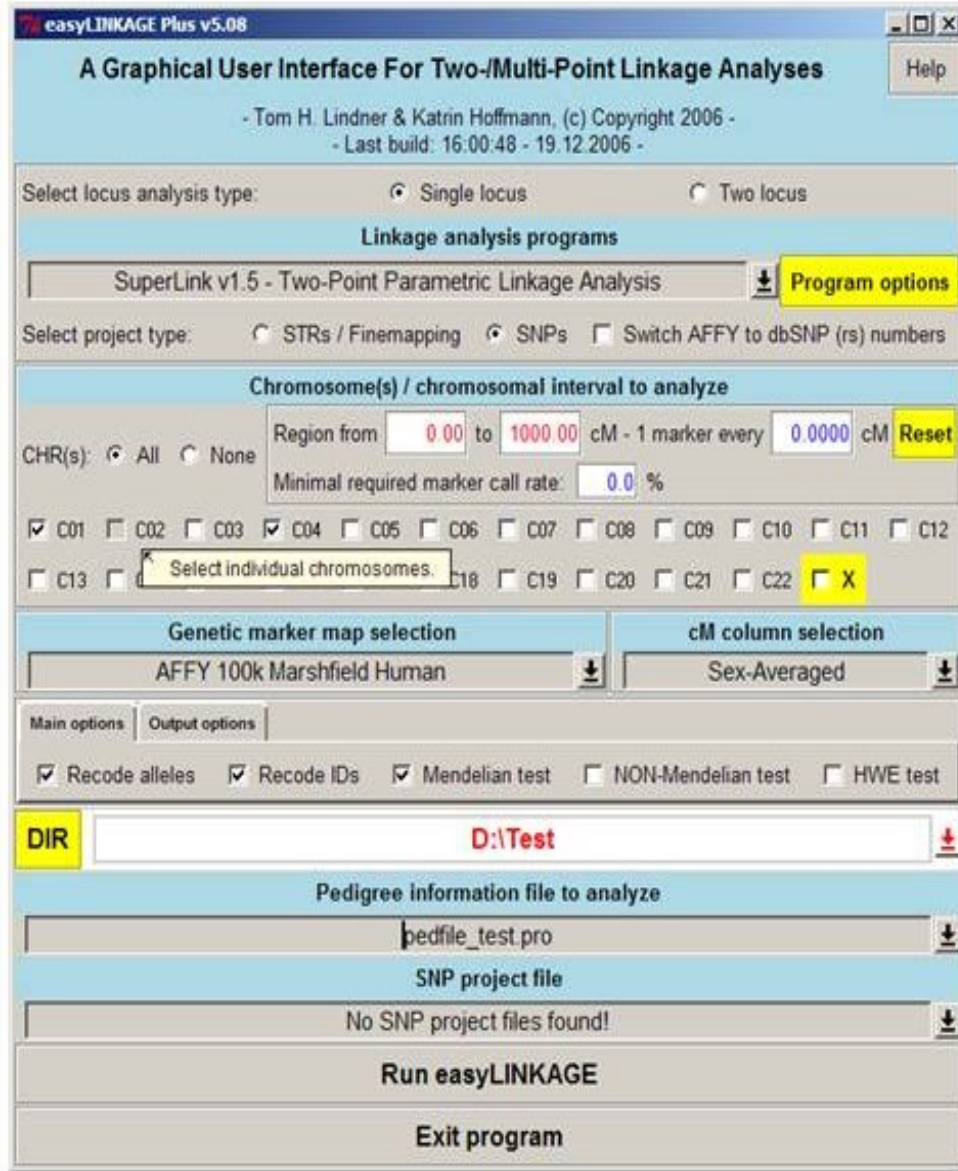
Aday yerleşim yaklaşımı: Bu yaklaşımda ilgili hastalıktan ya da malformasyondan sorumlu olduğu düşünülen aday bölgeler saptanmaya çalışılır. Daha önce hastalıkla bağlantılı olduğu gösterilen kromozom bölgeleri, fonksiyon açısından hastalığın oluşumunda rol alabileceği düşünülen gen bölgeleri, kromozom anomalileri ile birlikte hastalık fenotipinin gözlemlendiği bölgeler, farklı türlerde benzer fenotipin gözlenmesi ve fare-insan homoloji haritalarının kullanımı ile insanda ilgili geni barındıran bölgeler aday gen yaklaşımı altında seçilen bölgeleri oluşturur. Daha sonra bu aday gen bölgelerine isabet eden DNA markırları belirlenir. Bu amaçla genetik haritalar kullanılır. Harita bilgilerinden bu markırların birbirlerine göre kromozom üzerindeki sıralanışları, pozisyonları ve aralarındaki uzaklıklar elde edilerek aday olarak seçilen bölgeyi tam olarak tarayacak bir markır haritası hazırlanır. Daha sonra bu polimorfik DNA bölgelerine özgü PCR analizleri ve genotipleme yapılarak hastalık ile markır allel arasında bağlantı analizi uygulanır. Aday bölgelerin taranması bittiğinde herhangi bir lokalizasyon saptanamazsa tüm genomun taranmasına geçilir (17,18).

Genom-boyu analiz: Tüm genomu belli aralıklarla tarayan hazır polimorfik markır setleri kullanarak sadece aday bölgeyi değil genomun tamamını araştırma işlemidir. Bu amaçla genomu 5-10 cM aralıklarla tarayan ve kısa tekrar dizlerine yönelik markır panelleri mevcut olduğu gibi son yıllarda geliştirilen array teknolojisi ile genomu çok sık aralıklarla tarama kapasitesine sahip SNP markır panelleri mevcuttur (19).

Homozigotluk Haritalaması (Otozigot Haritalama): Otozigotluk, homolog kromozomların her ikisinin de aynı orijinden kaynaklanması durumunu ifade eden bir terimdir. Akraba evliliği yapan ailelerde resesif bir hastalık taşıyan bireyler hastalık lokusu ile bağlantılı olan markırlar açısından büyük bir olasılıkla otozigottur. Bu metod, lokus heterojenitesi nedeniyle başka türlü çözülmesi neredeyse imkansız olan otozomal resesif hatalıkların tesbitinde başarılı bir şekilde uygulanmıştır. Model gerektirmeyen bu teknikte hiç bir ön varsayım ihtiyacı yoktur. Bu yöntem, haritalamada istatistiksel analizin gücünü arttırmakta ve küçük aileler de bile yüksek LOD skor değerlerinin elde edilmesini olası kılmaktadır (20,21).

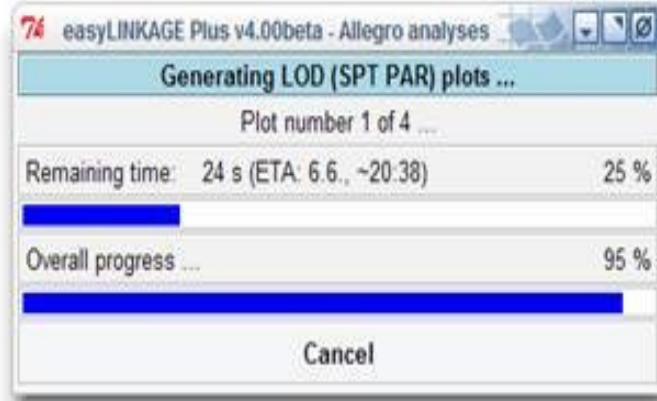
İstatistiksel analizler: Bağlantı analizi için LOD Skor analizi uygulanır. LOD Skor; aranan genin, test edilen kromozom lokusunda olması olasılığının, ilgili lokusta bulunmaması olasılığına oranının logaritmik olarak ifade biçimidir. Analiz sonucunda LOD Skor'un 3 ve üstü olduğu değerler

A

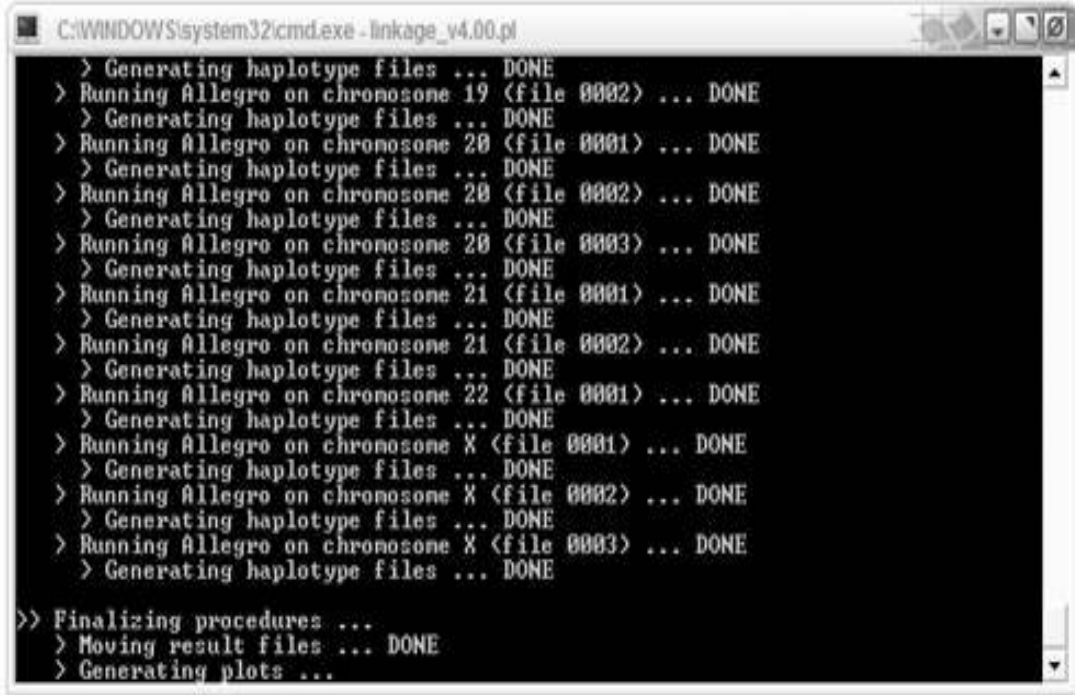


Şekil 5. A: easyLINKAGE v5.08 programının ekran görüntüleri (23)

B



C



Şekil 5. B, C: easyLINKAGE v5.08 programının ekran görüntüleri (23)

Tablo I. Linkage programları web adresleri (24)

Program	Desteklediği analizler	Link
FastLink	Parametrik	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/CBBresearch/Schaffer/fastlink.html
SuperLink	Parametrik	http://bioinfo.cs.technion.ac.il/superlink
SPLink	Nonparametrik	http://www-gene.cimr.cam.ac.uk/clayton/software
Genehunter	Nonpara-/parametrik	http://www.broad.mit.edu/ftp/distribution/software/genehunter/
Genehunter Plus	Nonpara-/parametrik	http://galton.uchicago.edu/genehunterplus
Genehunter MOD	Nonpara-/parametrik	http://www.staff.uni-marburg.de/~strauchk/software.html
Genehunter Imprinting	Nonpara-/parametrik	http://www.staff.uni-marburg.de/~strauchk/software.html
GeneHunter TwoLocus	Parametrik	http://www.staff.uni-marburg.de/~strauchk/software.html
Merlin	Nonpara-/parametrik	http://www.sph.umich.edu/csg/abecasis/Merlin/download
SimWalk	Nonparametrik	http://www.genetics.ucla.edu/software
Allegro	Nonpara-/parametrik, simülasyon analizleri	allegro@decode.is
PedCheck	Mendelyan hata kontrolleri	http://watson.hgen.pitt.edu/register/soft_doc.html
FastSLink	Simülasyon analizleri	http://watson.hgen.pitt.edu/register/soft_doc.html ftp://linkage.rockefeller.edu/software/slink

bağlantıyı desteklemesi açısından anlamlı kabul edilirken, 2 ve giderek negatifleşen değerler ise kesin olarak bağlantı yokluğunu destekler. Aradaki değerlerde lokusun ispatlanabilmesi için bir dizi farklı işlem yapılması gerekir. Burada önemli nokta, sonuçta bu analiz ile bulunan bir olasılık değeridir ve saptanan lokus gerçek lokus olmayabilir. Hastalıktan sorumlu gen ve gen içi mutasyon gösterilinceye kadar lokus bilgisi yanlıtıcı olabilir (22).

LOD Skor analizleri için yaygın olarak kullanılan program Elston Stewart Algoritmasını kullanan LINKAGE paket programıdır. Bu program LINKMAP, MLINK, ILINK ve LODSCORE alt pro-

gramlarından oluşur. LINKMAP ise çok noktalı bağlantı analizinde kullanılan alt programdır. İki lokusun birbirine göre analiz edilmesi için MLINK alt program kullanılmaktadır. Polimorfik markırların birbirlerine göre yerleşim ve sıralarının saptanmasında ILINK programı kullanılırken, LODSCORE maksimum olasılıkların hesaplanmasında uygulanan parogramdır. LINKAGE programı, özellikle geniş genom boyu verilerinin analizinde ve aynı anda çok sayıda markırın hastalıkla ilişkilendirilmesine yönelik çok noktalı bağlantı analizinde yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle farklı algoritmalar ve programlar geliştirilmiştir (22,23) (Şekil 5). Lander-Green Algoritması ile çalışan MERLIN, ALLEGRO, GENEHUNTER gibi pro-

gramlar bu amaca yönelik geliştirilmiş olan programlardır (24) (Tablo I).

Bu programların tamamı birbirine benzer giriş dosyaları oluşturularak çalıştırılır. Bu veriler, pedigrilerini içeren pedigriler dosyası, kalıtım bilgileri, gen frekansları ve markır allel frekanslarının tanımlandığı bir parametre dosyasından oluşmaktadır. LINKAGE programı bir indeks vaka üzerinden ailedeki bütün akrabalık ilişkilerinin birbirine göre tanımlandığı ek bir dosya daha kullanılmaktadır. Analizlerde farklı programların aynı genotip verilerinin analizine yönelik olarak kullanılması veri güvenliğini artırıcı bir unsurdur (23,24).

KAYNAKLAR

1. Griffiths G, Anthony JF, Miller M, Jeffrey H, Suzuki, David T, Lewontin RC, and Gelbart WM. *An Introduction to Genetic Analysis*. (5th Ed.), W.H. Freeman and Company, New York 1993; Chap. 5.
2. Kong X, Murphy K, Raj T, et al. *A combined linkage-physical map of the human genome*. *Am J Hum Genet* 2004; 75:1143-1148.
3. *History of genetic mapping*. Erişim: [<http://medicine.jrank.org/pages/2486/Mapping-History-Genetic-Mapping.html>], Erişim Tarihi: 14.10.2010.
4. Gyapay G, Morissette J, Vignal A, et al. *The 1993-94 Genethon human genetic linkage map*. *Nat Genet* 1994; 2:246-339.
5. Kruglyak L, Daly MJ, Reeve-Daly MP, et al. *Parametric and nonparametric linkage analysis: A Unified Multipoint Approach*. *Am J Hum Genet* 1996; 58:1347-1363.
6. Ott J. *Analysis of Human Genetic Linkage*. Johns Hopkins University, Baltimore 1991; pp129-139.
7. Gershon ES, De Lisi LE, Hamovit J, et al. *A controlled family study of chronic psychoses, schizophrenia, and schizoaffective disorder*. *Arch Gen Psychiatry* 1988; 45:328-336.
8. Terwilliger JD and Ott J. *Handbook of Human Genetic Linkage*. Johns Hopkins University, Baltimore 1994; pp 148.
9. Ott J. *Analysis of Human Genetic Linkage (3rd Ed.)*. The John Hopkins University Press, New York 1999; pp60-64.
10. Leal SM, Müller-Myhsok B, and Nothnagel M. *Basic gene mapping linkage analysis course*. Max Delbrück Centre for Molecular Medicine, Berlin, Germany 4-8 July 2005; pp15.
11. Dib C, Faure S, Fizames C, et al. *Comprehensive genetic map of the human genome based on 5,264 microsatellites*. *Nature* 1996; 380:152-154.
12. Donis-Keller H, Green P, Helms C, et al. *A genetic linkage map of the human genome*. *Cell* 1987; 51:319-337.
13. Sheffield VC, Weber JL, Buetow KH, et al. *A collection of tri- and tetranucleotide repeat markers used to generate high quality, high resolution human genome-wide linkage maps*. *Hum Mol Genet* 1995; 4:1837-1844.
14. Korn JM, Kuruvilla FG, McCarroll SA, et al. *Integrated genotype calling and association analysis of SNPs, common copy number polymorphisms and rare CNVs*. *Nat Genet* 2008; 40:1253-1260.
15. Gyapay G, Morissette J, Vignal A, et al. *The 1993-94 Genethon human genetic linkage map*. *Nat Genet* 1994; 2:246-339.
16. Weissenbach J, Gyapay G, Dib C, et al. *Second generation linkage map of the human genome*. *Nature* 1992; 359:794-801.
17. Kong X, Murphy K, Raj T, et al. *A combined linkage-physical map of the human genome*. *Am J Hum Genet* 2004; 75:1143-1148.
18. Broman KW, Murray CJ, Sheffield RL, et al. *Comprehensive human genetic maps: Individual and sex-specific variation in recombination*. *Am J Hum Genet* 1998; 63:861-869.

19. Davies JL, Kawaguchi Y, Bennt ST, et al. A genome-wide search for human type I diabetes susceptibility genes. *Nature* 1994; 371:130-136.
20. Forshew T and Johnson CA. SCAMP: A spreadsheet to collate autozygosity mapping projects. *J Med Genet* 2004; 41:125.
21. Woods CG, Valente EM, Bond J, et al. A new method for autozygosity mapping using single nucleotide polymorphisms (SNPs) and EXCLUDEAR. *J Med Genet* 2004; 41:101.
22. Akarsu AN, and Lüleci G. Gen haritalaması: Ne demek, haritalar nasıl oluşturuluyor, neler içeriyor, nasıl yorumlanıyor? *Dokuz Eylül Tıp Dergisi* 2002; (İnsan genomu projesi-özel sayı): 29-39.
23. Lindner TH and Hoffmann K. Manual – easy-LINKAGE Plus v5.05, Germany 2004.
24. North Shore LIJ Research Institute (2006). An alphabetic list of genetic analysis software. Erişim: [<http://linkage.rockefeller.edu/soft/>], Erisim Tarihi: 14.10.2010.