

Unipro UGENE: 3 Boyutlu Biyolojik Yapı Görselleştirme Aracı

Ümmühan Şaş^Y, Fatma Duran^E.

Giriş

Biyolojik bilimlerin hızla gelişmesiyle beraber, araştırmalar ve uygulamalar sonucunda büyük miktarda veri yığınları oluşmuştur. Dünya genelinde farklı laboratuvarlarda yapılan çalışmalar sonucu çok sayıda genomik bilgi elde edilmektedir. Bilimin hızlı ilerleyişi araştırmacılar üzerine önemli bir bilgi yükü getirmiştir. Elde edilen bilgilerin bir araya getirilip işlenmesi oldukça önemli ve zor bir iştir. Genomik verilerin hızlı, güvenilir ve kolay erişilebilir bir ortamda saklanması ihtiyacı bu nedenle ortaya çıkmıştır. Biyoenformatik, biyolojik bilgilerin düzenlenmesi ve saklanması için veri tabanlarının oluşturulmasını temel alan bir disiplindir. Günümüzde bilginin depolanması için kullanılan ve etkili erişime olanak sağlayan en geçerli yol **veri tabanı programlarıdır**¹. Veri tabanı; toplanan bilgileri işleyebilen, istenen sonuçları kolaylıkla hazırlayabilen bir bilgisayar programıdır. Biyolojik sistemler ve olaylar hakkında toplanan bilgilerin sağlıklı biçimde değerlendirilmesi; biyoloji, biyokimya, kimya ve tıp ile bilişim bilimleri, matematik ve istatistiğin entegrasyonunun sonucu doğan yeni ve disiplinler arası bir bilim dalı olan biyoenformatik sayesinde mümkün olmaktadır. Biyoenformatik genel olarak biyolojik problemlerin çözümünde bilişim teknolojilerinin kullanılması olarak tanımlanmaktadır. En dar tanımı ile genomik sekansları destekleyen biyolojik veri tabanlarının oluşturulması ve

işletilmesi, en geniş tanımı ile de mevcut tüm bilgisayar uygulamalarının biyolojik problemlerin çözümünde kullanılması olarak anlaşılmaktadır².

Biyoenformatik modern biyolojinin **iki temel** bilgi akışını kapsamaktadır. ³

1. Genetik Bilgi Akışı:

Bir organizmanın DNA'sı incelenerek özelliklerinin belirlenmesinden, incelenen bu organizma türünün oluşturduğu toplulukların karakteristik özelliklerine kadar olan bilgi akışıdır. Elde edilen DNA bilgisi tekrar genetik havuzun tanımlanması için kullanılmaktadır⁴.

2. Deneysel Bilgi Akışı: Biyolojik olaylar gözlemlenerek elde edilen enformasyon, açıklayıcı matematiksel modeller ile tarif edilmekte ve daha sonra bu modellerin doğruluğu yeni deneyler ile test edilmektedir⁴. Büyük veri birikimlerinin oluşmasının bir sonucu olarak biyoenformatik araçların sayısında da artışa neden olmuştur. Biyoenformatik araçlarının sayısının artması, metodolojide de karmaşıklığa neden olmuştur. Bunun bir sonucu olarak, yazılım mühendisliği alanında da eksikliği gözlemlenmiştir. Yazılım mühendisliği alanındaki eksiklikler sonucu olarak biyoenformatik alanında uygulamaların kurulumu, kullanımı ve diğer programlar ile entegrasyonu zor bir görev haline gelmiştir⁴.

Bu durumu düzeltmek adına önerilen bazı çözümler ise şu şekildedir;

Çok platformlu, kurulumu kolay, kullanımı kolay bir GUI (Grafiksel Kullanıcı Arayüzü) arayüzünün arkasındaki temel karışıklığı gizleyen biyoenformatik araçlar bulunmaktadır. Bu tür araçlara iyi örnekler **Artemis** genom tarayıcısı⁵, **Jalview** çoklu hizalama düzenleyicisi⁶, **Tablet**⁷ ve **IGV**⁸ yeni nesil dizileme (NGS) ve veri görselleştirme paketleridir⁹. **Galaxy**¹⁰ veya **Taverna**¹¹ gibi uygulamalar biyoenformatik iş akışlarını yönetmek için kolayca erişim imkânı sağlamakta ve araçlar arasındaki entegrasyon sorunlarını çözmektedir. Unipro UGENE de bu paket programlardan biri sayılmaktadır¹².

Unipro UGENE

Unipro UGENE, biyoenformatikte yeterli uzmanlığa sahip olmayan bilim insanları için verileri yönetme, analiz etme ve görselleştirme konusunda yardımcı olmayı amaçlayan çok platformlu bir açık kaynaklı yazılımdır¹³. UGENE yaygın olarak kullanılan biyoenformatik araçlarını ortak bir kullanıcı arayüzü içinde bütünleştirmektedir. Araç seti, çoklu biyolojik veri formatlarını desteklemekte ve uzak veri kaynaklarından verilerin alınmasına izin vermektedir. Açıklamalı genom dizileri, NGS, assembly data, çoklu dizi hizalamaları, filogenetik ağaçlar ve 3-Boyutlu (3B) yapılar gibi biyolojik nesneler için görselleştirme modülleri sağlamaktadır. UGENE, yerel kaynaklarda veya yüksek performanslı bilgi işlem (high performance computing, HPC) ortamında başlatılabilen, yeniden kullanılabilir iş akışları oluşturmak için görsel bir ortam içermektedir. Ek olarak; harita

okumak (reading maps) sıralamak için çeşitli araçları entegre etmektedir ve birçok veriyi bir model ile tek bir grafik arayüzünde birleştirmektedir¹⁴. Farklı türlerde görselleştirme ve veri işleme amacıyla tasarlanmıştır¹⁵. UGENE şu anda 20'den daha fazla popüler biyolojik veri formatında okuma ve yazmayı desteklemektedir. Bunlar arasında **FASTA**¹⁶, **GenBank**¹⁷, **Clustal**¹⁸, **SAM/BAM**¹⁹ bulunmaktadır. Yerel dosyalar ile çalışabilme kapasitesine ve **NCBI**, **GenBank**, **Uniprot**²⁰ ve **PDB**²¹ dâhil olmak üzere önemli biyolojik çevrim içi veri tabanlarından verilere erişme yeteneğine sahiptir. UGENE geniş hesaplama yöntemleri kitaplığı içermektedir. Bu kitaplıkta bulunan entegre araçlar ve algoritmalar ile kalıp arama (pattern search), yerel dizi hizalama, çoklu dizi hizalama ve primer tasarımı gibi sorunlara çözüm kaynağı olmaktadır²²(.)

İki tür UGENE aracı bulunmaktadır. Bunlar, UGENE uygulamasına doğrudan entegre olanlar ve harici araçlardır. Harici bir araç kullanmak için ikili yürütülebilir dosyaların UGENE veri tabanında mevcut olması gerekmektedir. Gerekli olan tüm ikili dosyalar UGENE web sitesinden²³ ayrı bir paket olarak veya UGENE paketindeki bir parçası olarak indirilebilmektedir. UGENE'nin önemli bir avantajı dâhil edilen tüm algoritmaların UGENE veri modelini kullanabilecek şekilde uyarlanmış olmasıdır. Bu durum araçların girdileri ve çıktıları arasında manuel veri dönüşümlerinden kaçınmayı sağlamaktadır²⁴. Algoritma kütüphanesi sadece **MUSCLE**²⁵ veya **BOWTIE**²⁶ gibi popüler araç ve yöntemlerden oluşmamakta aynı zamanda

diğer araştırmacıların katkıları ile UGENE ekibi tarafından geliştirilen hesaplama yöntemlerini de içermektedir. Bu hesaplama yöntemleri UGENE geliştiricileri tarafından izlenmekte ve tipik olarak güncellemeler her ana sürüme uygulanmaktadır. Böylelikle entegre koddaki gerilemelerin önüne geçilmektedir²⁷.

Erişim: Unipro UGENE’de şu adresten ulaşılmaktadır; MS Windows, Linux ve macOS için ücretsiz kurulum paketleri mevcuttur²⁸. UGENE web sitesi üzerinden işletim sistemine uygun paketler seçilerek kolaylıkla kurulmaktadır. UGENE paket programında çalışmalara başlayabilmek için öncelikle hangi canlılar üzerinde çalışma yapılmak isteniyorsa bu canlıya ait DNA ve RNA dizileme verilerinin FASTA formatı halinde temin edilmesi gerekmektedir. İlgili veriler, UGENE programının erişim halinde olduğu çevrimiçi veri tabanlarından sağlanmaktadır. Örneğin; Unipro UGENE’de çoklu hizalama ve filogenetik ağaç oluşturmak istenildiğinde aynı gen bölgesi (*BRCA2*) için 10 farklı canlı kullanılarak bu işlemi gerçekleştirilecektir. (*BRCA2* geni aminoasit dizi sekansı Uniprot veri tabanından elde edilecektir²⁹.

ÖRNEK UYGULAMA

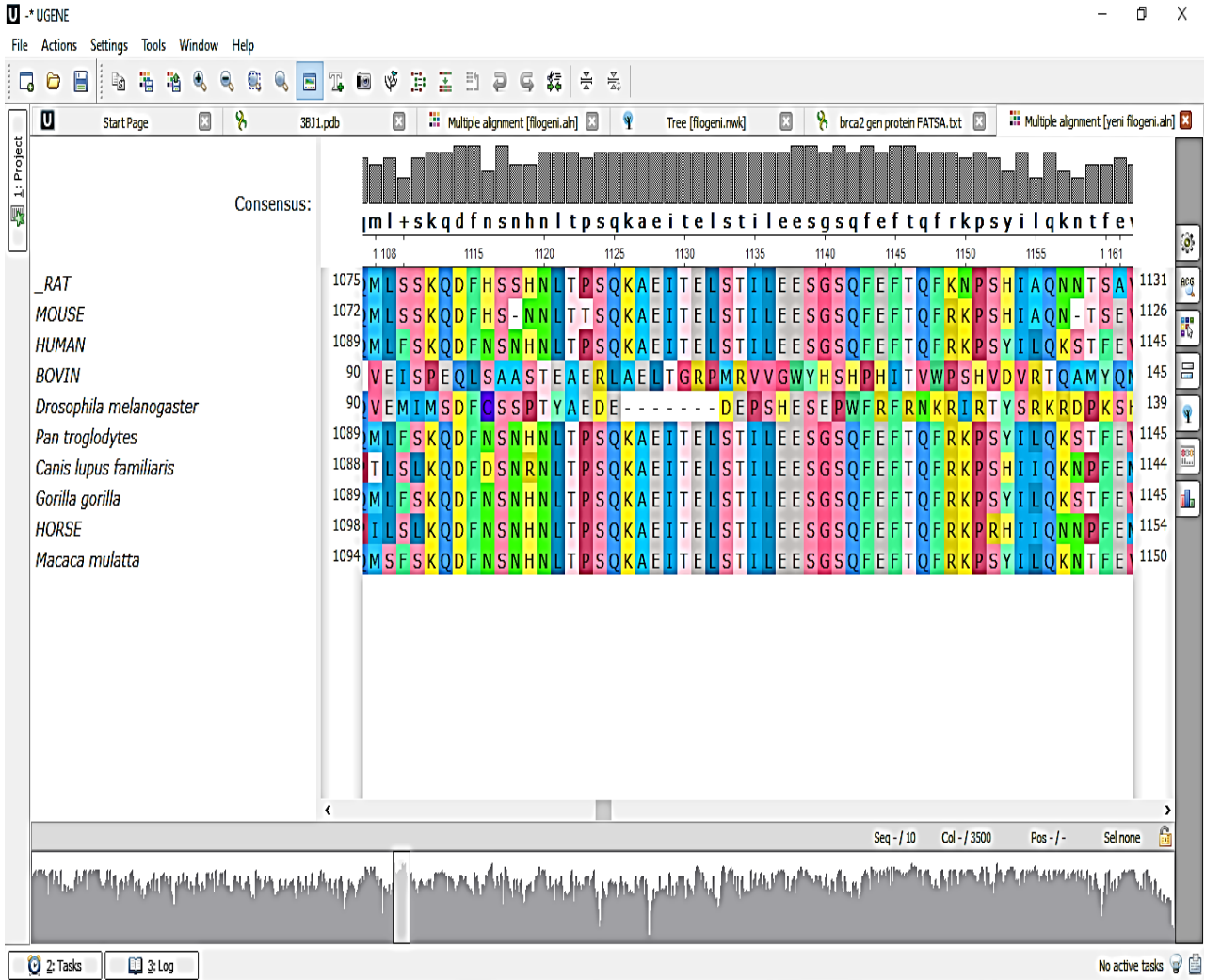
Çoklu Hizalama ve Filogenetik Ağaç Oluşturma

1. Adım: UniProt³⁰ veri tabanından aminoasit dizileri FASTA formatında indirilmektedir. Aşağıda on farklı canlı türüne ait *BRCA2* gen bölgesinin aminoasit dizileri hizalanmıştır.

2. Adım: FASTA dosyası UniProt ana sayfasındaki indir butonu kullanılarak elde edilmektedir. Farklı kaydet seçeneği kullanılarak indirilen proteinlere ait FASTA dosyaları istenilen dosya adı ile kaydedilebilmektedir.

3. Adım: UGENE programında File seçeneğinden kaydedilen protein FASTA dosyaları seçilerek UGENE üzerinde çalışmalar yapılabilir.

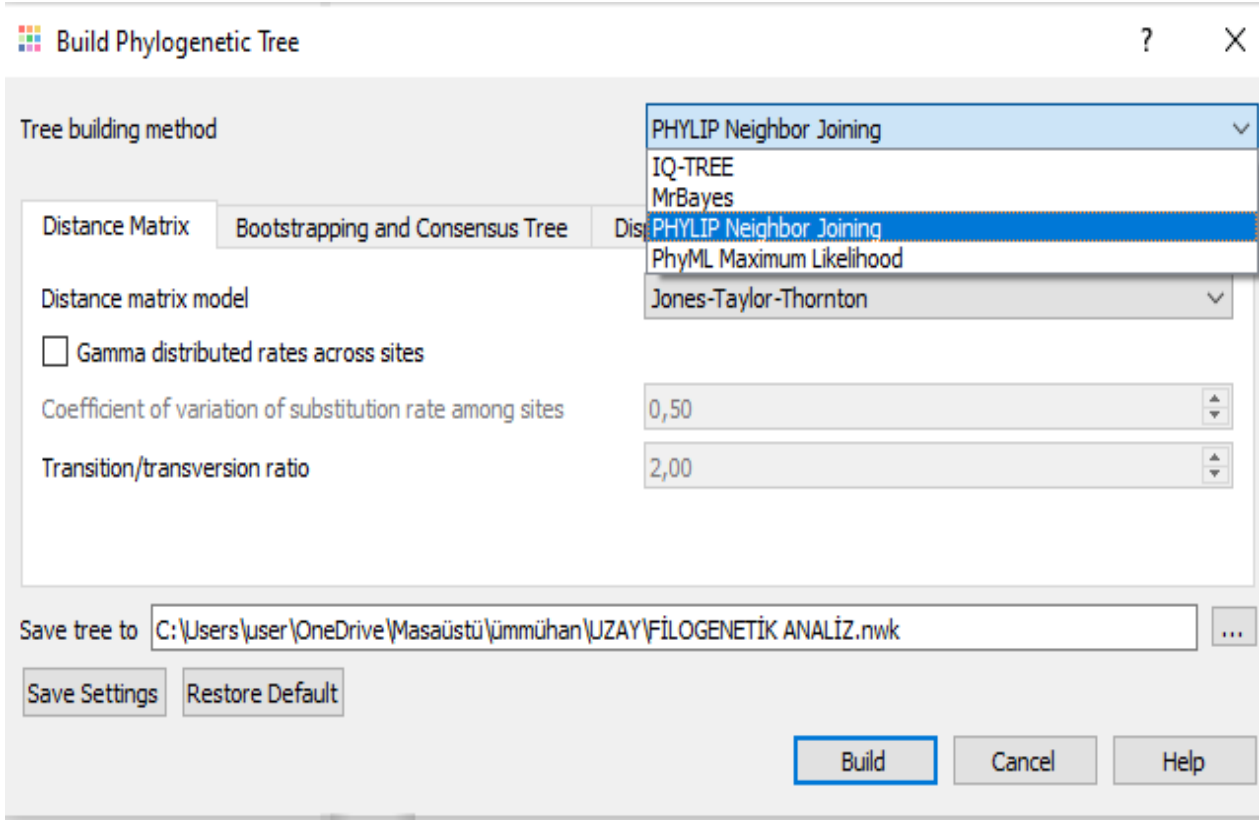
4. Adım: Anasayfadaki Tools (araçlar) seçeneğinden yapılacak işlem seçilmektedir. Filogenetik ağaç oluşturmak için ilk adım olarak çoklu dizi hizalama araçları kullanılmaktadır. Bu araçlar **MUSCLE**, **ClustalW**, **ClustalQ**, **MAFFT**, **T-Coffee**, **Kaling** çoklu hizalama araçlarıdır. Örnek uygulamada MUSCLE hizalama aracı kullanılarak çoklu hizalama işlemi gerçekleştirilecektir. Girdi-Çıktı dosyaları (input file-output file) seçildikten sonra yazılım hizalamayı **Şekil 1**’de gösterildiği gibi yapmaktadır.



Şekil 1. Çoklu Hizalama. On farklı canlının UGENE yazılımında çoklu hizalanması görülmektedir. Çoklu dizilimin altında gri renkteki kısımda istediğimiz aralıklara ulaşım sağlanabilmektedir. Çoklu dizilimin üst kısmında konsensus dizilerini bize göstermektedir. Sağ kısımda ayarlar simgesine tıklayarak istediğimiz canlının aminoasit sekansını görüntüleyebiliriz. Aynı zamanda sekans dizilerinin renklendirmesini de bu kısımdan sağlayabiliriz³¹.

5.Adım: Çoklu dizi hizalaması yapıldıktan sonra Build Phylogenetic Tree kısmından filogenetik ağaç oluşturma aşamasına geçilmektedir. Açılan sayfada ağaç oluşturma metodu seçimi yapılmaktadır. Bu örnekte **Şekil 2**'de görüldüğü gibi komşu birleştirme algoritması

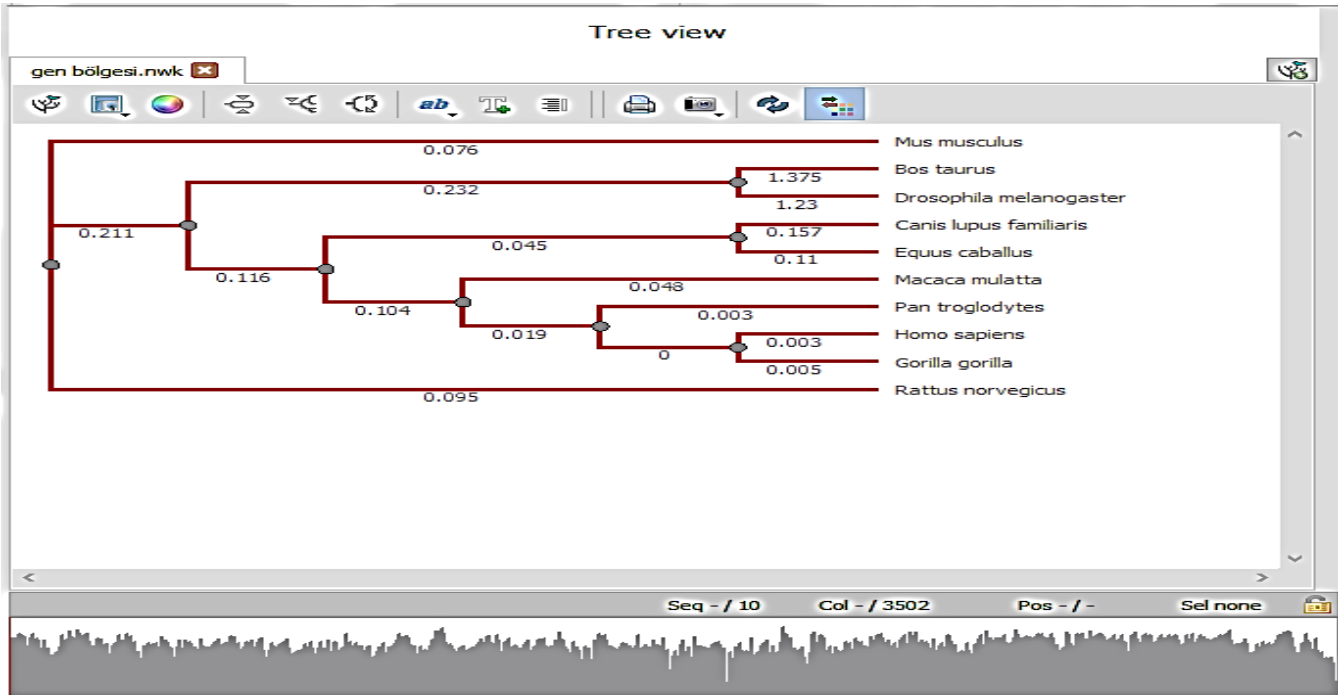
(PHYLIP Neighbor Joining) metodu seçilmiştir. Bu metod çift yönlü kümeleme veya komşu birleştirme algoritması kullanılarak mesafe matrisi verilerinden filogeni sonuçlarının çıkarılması şeklinde uygulanmaktadır³².



Şekil 2. Filogenetik ağaç oluşturma metodu. Bu aşamaya gelmek için unipro UGENE ana sayfasının sol üst kısmındaki Build Tree kısmına tıklayarak farklı şekillerde ağaç oluşturma metodları belirlenmektedir. Aynı zamanda save tree to kısmından bilgisayarımızda istediğimiz yere kaydedip tekrardan kullanımını sağlanabilmektedir.

6. Adım: Filogenetik ağaç oluşturularak açılan sekmede ağaç üzerinde düzenlemeler yapılabilmektedir. Branch settings kısmından filogenetik ağacın; rengi ve çizgi kalınlığı ayarlanmaktadır. Layout kısmından ağaç şekilleri; dikdörtgen şeklinde, yuvarlak şekilde ve atası belli olmayan (rectangular, circular, unrooted) değiştirilmektedir. Şekil 3’de uygulanan parametreler sonucunda 10

farklı canlı türüne ait filogenetik ağaç program tarafından oluşturularak canlıların birbirinden ayrılma zamanları gösterilmektedir.



Şekil 3. On farklı canlı türünün BCRA2 gen bölgesi için oluşturulan rectangular (dikdörtgen) ağaç. Build Tree seçeneğine tıklayarak farklı metodlarda ağaçlandırma seçimi yapılmaktadır. Ayrıca canlı türlerinin ilk olarak birbirinden ne zaman ayrıldığını, dış grup ve komşu grup da filogenetik ağaç oluşturularak şekildeki gibi görüntülenebilmektedir.

UGENE’de Primer Oluşturma

1. Adım: NCBI veri tabanından *Homo sapiens* için *IL6* (interlökin-6) gen bölgesi “gene” kısmı seçilerek tarama işlemi gerçekleştirilmiştir. Açılan sayfada FASTA kısmına tıklanarak sağ üst köşede bulunan Send To kısmına tıklanır 2.Adımdaki aşamalar sırası ile gerçekleştirilir.

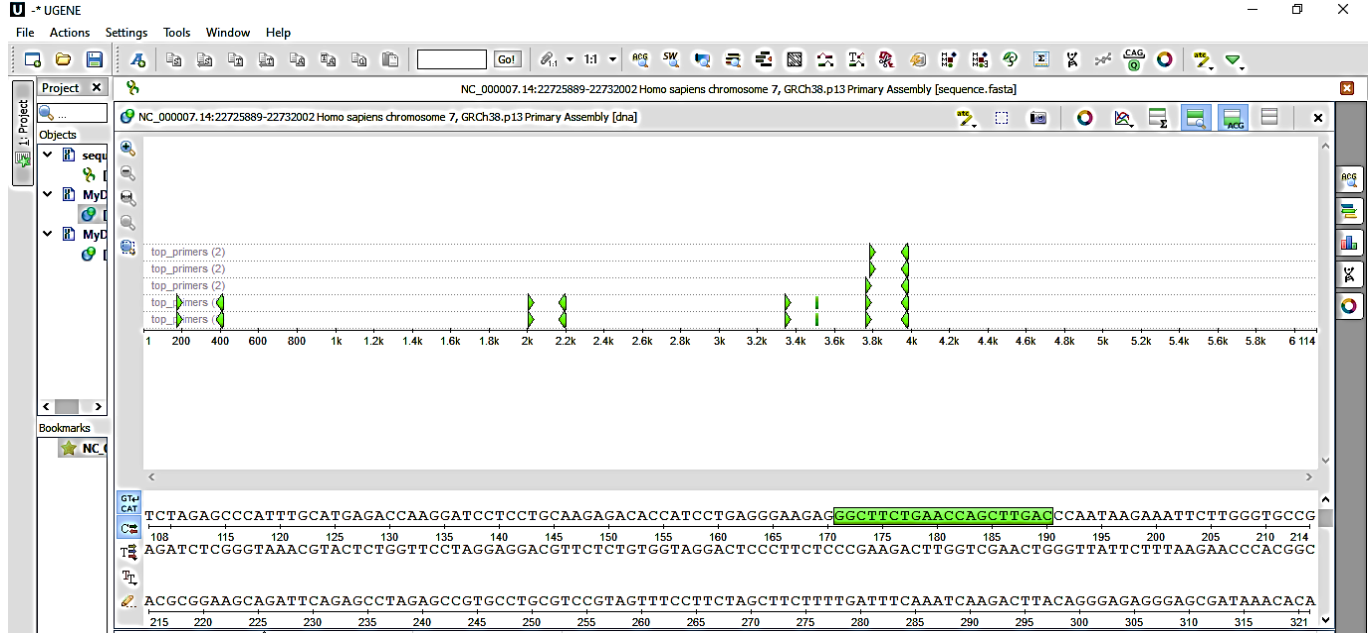
2. Adım: Send To –File –FASTA–Create File seçenekleri ile FASTA formatı bilgisayara kaydedilir.

3.Adım: Select files to open kısmından bilgisayara indirilen FASTA formatındaki

dosya hangi isim ile kayıt işlemi yapıldı ise o dosya seçilerek UGENE kaydedilmektedir.

oluşturulmaktadır. **Şekil 4**'te Unipro UGENE ile oluşturulmuş 22 adet primer görülmektedir.

4.Adım: Analyze – Primer3- Main – Targets aşamaları sırası ile uygulayarak primer

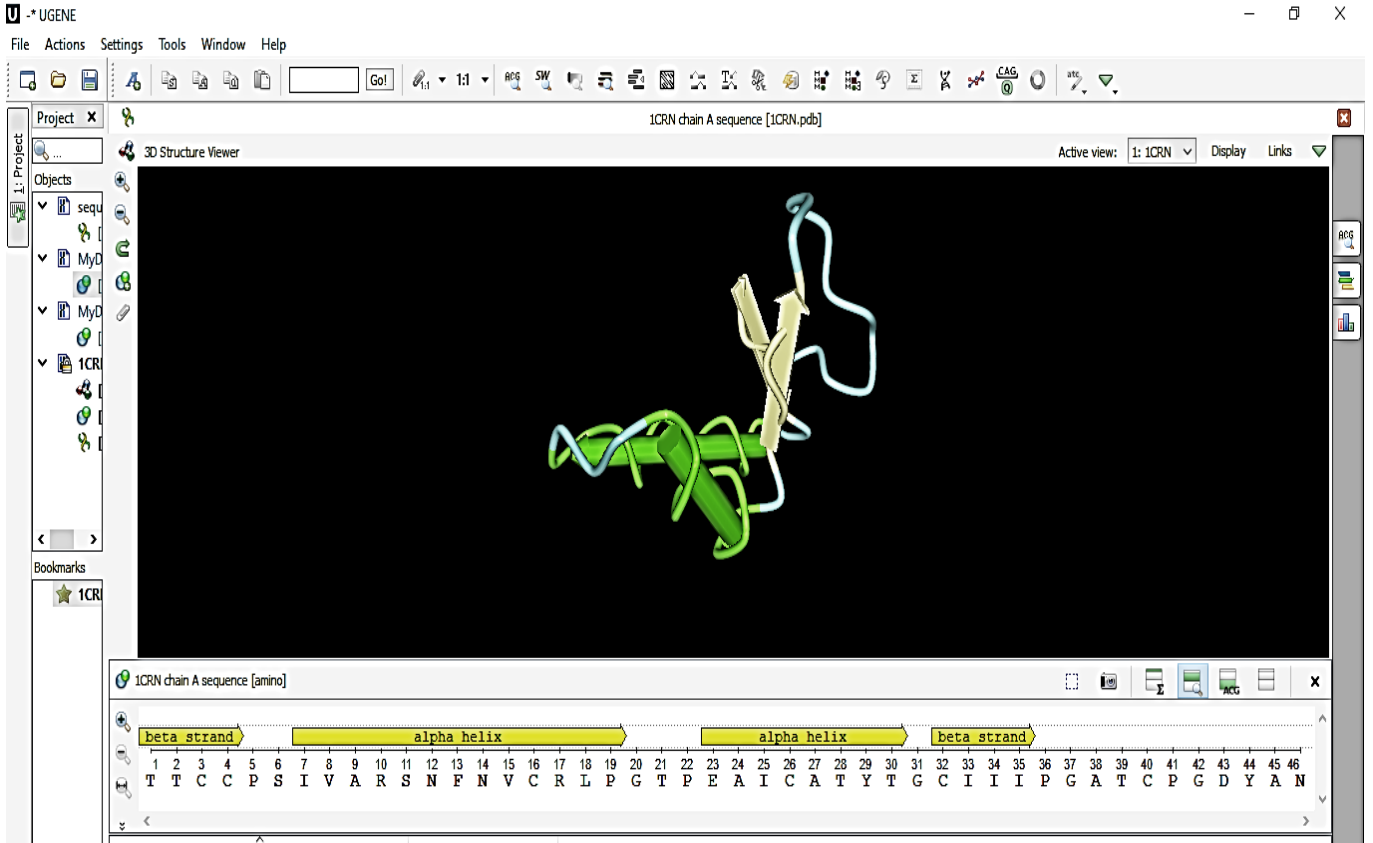


Şekil 4. Unipro UGENE ile oluşturulmuş 22 adet primer. Unipro UGENE ile oluşturulmuş 22 adet primer görülmektedir. Oluşturulan primerlerin alt kısımda hangi baz dizileri arasında olduğu primerin baz dizilimini görmek mümkün aynı zamanda programda ileri ve geri primerler aynı anda oluşturulmaktadır. Yukarıdaki şekilde 11 tane ileri primer, 11 tane de geri primer mevcuttur.

3B Gösterim

1.Adım: Files - Access remote database - Database- PDB (Protein Data Bank) kısmını seçilerek -Resource ID kısmına,PDB'den alınan ve moleküller modellerin eşsiz

tanımlama veya erişim kodunun yazılması gerekmektedir. Örneğin 1CRN (crambin kristallerindeki su moleküllerinin pentagon halkaları) 3B yapısı Şekil 5'deki gibi görüntülenebilmektedir.



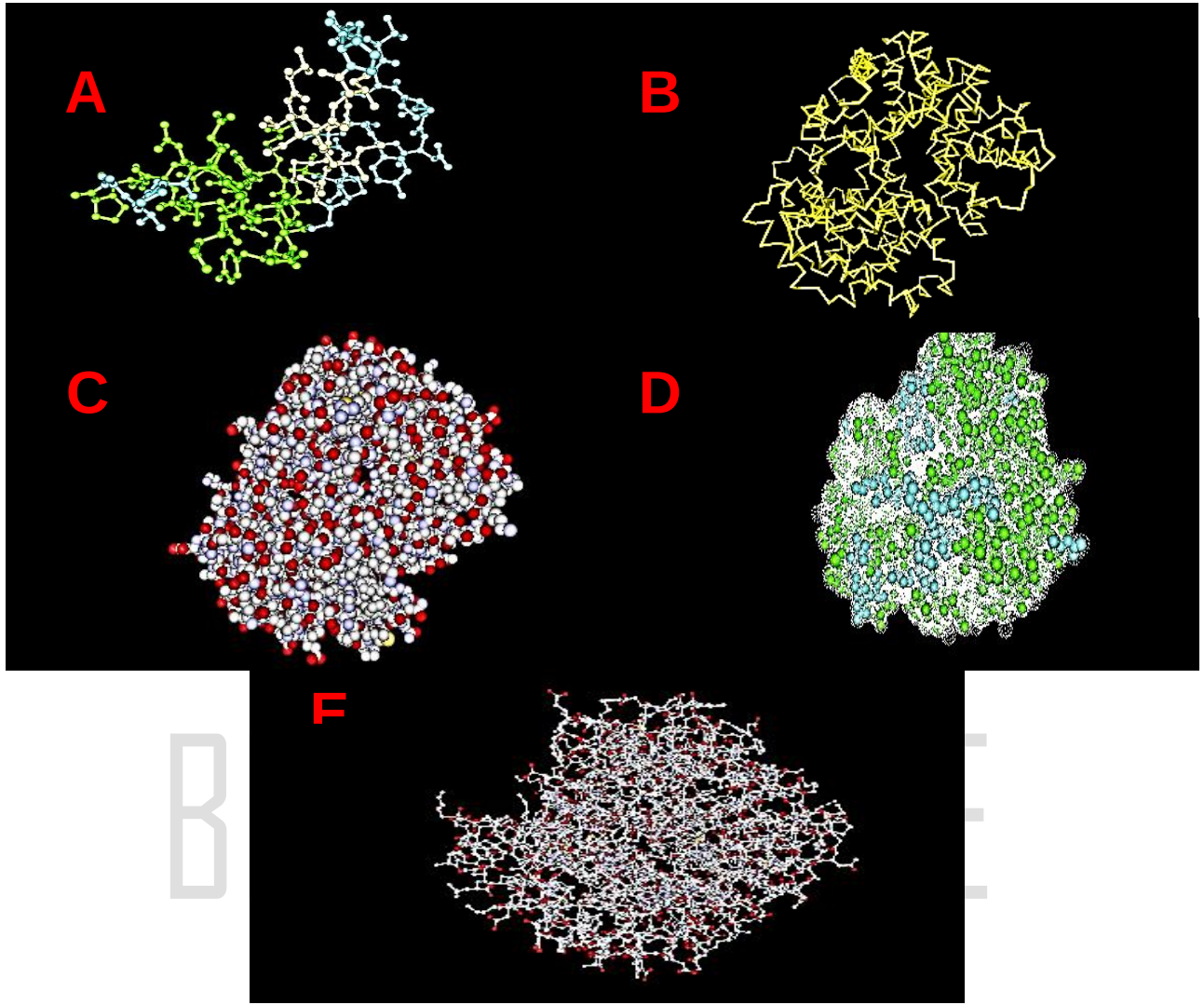
Şekil 5. UGENE’de 1CRN proteinin 3B yapısının görüntülenmesi. 1CRN proteininin bağ yapıları ve sekonder (ikincil) yapısı gösterilmektedir. Alt kısmında şekilde de görüldüğü üzere hangi bazlarda alpha helix, beta strand bağları olduğu yazmaktadır. Sağ tıklayarak bağların proteinin renklerinde değişim yapılabilir.

3B Yapıda Top-Çubuk Gösterim

- 1. Adım:** Files - Access remote database - Database- PDB kısmı seçilerek -Resource ID kısmına bir kod yazmamız gerekmektedir. Örneğin 3BJ1 (Hemoglobin alfa proteinine ait PDB erişim kodu.)
- 2. Adım:** Farede sağ tıklama işlemi yaptıktan sonra Render style kısmından Ball and

Stick kısımları seçilip farklı şekillerde proteinlerin üç boyutlu görüntüleri elde edilmektedir. Yine aynı şekilde Render style kısmından tubes kısmı seçilerek tüp şeklinde ve space fill kısmından da boşluk doldurma şeklinde proteinin üç boyutlu modeli elde edilmektedir.

Şekil 6’da 1CRN proteininin 3B farklı gösterimleri mevcuttur.



Şekil 6. Unipro UGENE’de Oluşturulan 3B Bitki Proteininin Konformasyonları. (A)Top- çubuk gösterimi. (B) Tubes gösterimi. (C,D) Space Fill gösterimi. (E) Ball and Stick gösterimi (F) Renkler aminoasit dizlerine göre renklendirme işlemi yapılmaktadır. Sağ tıklayarak istediğimiz aminoasittin rengini değiştirilebilmektedir.

Sonuç

Biyoloji alanında çalışma yapan bilim insanları, çalışmalarının daha net ve anlaşılır olması için daha etkili görseller kullanmak istemektedir. Günümüzde bilim insanlarının moleküler çizimler ve modeller için yaygın bir şekilde kullandıkları programlar ise şu şekildedir; **UCSF Chimera**³³, **UCSF**

ChimeraX³⁴, **CCP4mg**³⁵, **VMD**³⁶, **PyMOL**³⁷.

Bu derlemede anlatılan Unipro UGENE ile de modelleme yapılmaktadır ve proteinlerin görüntüleri elde edilmektedir. Bunun yanı sıra, proteinlerin 3B yapılarının farklı şekillerde gösterimleri elde edilebilirken aynı zamanda, primer tasarımı ve filogenetik ağaç oluşturma gibi çok çeşitli fonksiyonlar da

bulanmaktadır³⁵. Bu açıdan Unipro UGENE kullanılarak birçok veri tabanı ile entegre bilimsel çalışmalarda, arkeolojide sınıflandırmada, halde çalışmakta aynı zamanda BLAST işlemi antropoloji, bitki taksonomisi gibi alanlarda de Unipro UGENE’de gerçekleştirilmektedir³⁸.

Referanslar:

1. Lesk AM (26 July 2013). "Bioinformatics". En cyclopaedia Britannica.
2. Neil, C. , Jones Pavel A. Pevzner *An Introduction to Bioinformatics Algorithms* (BOOK) bulunmaktadır.
3. Bayat A. (2002). Science, medicine, and the future: Bioinformatics. *BMJ* (Clinical research ed.), 324(7344), 1018–1022. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmj.324.7344.1018>
4. Milne, I., Bayer, M., Cardle, L., Shaw, P., Stephen, G., Wright, F., & Marshall, D. (2010). *Tablet--next generation sequence assembly visualization*. Bioinformatics (Oxford, England), 26(3), 401–402. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp666>
5. Robinson, J. T., Thorvaldsdóttir, H., Winckler, W., Guttman, M., Lander, E. S., Getz, G., & Mesirov, J. P. (2011). *Integrative genomics viewer*. Nature biotechnology, 29(1), 24–26. DOI: <https://dx.doi.org/10.1038/nbt.1754>
6. Behjati, S., & Tarpey, P. S. (2013). What is next generation sequencing?. *Archives of disease in childhood. Education and practice edition*, 98(6), 236–238. <https://doi.org/10.1136/archdischild-2013-304340> DOI: [10.1136/archdischild-2013-304340](https://doi.org/10.1136/archdischild-2013-304340)
7. Koonin, E.V. (2012) Does the central dogma still stand?. *Biol Direct* 7(27). DOI: <https://doi.org/10.1186/1745-6150-7-27>
8. Andrew M Waterhouse 1, James B Procter, David M A Martin, Michèle Clamp, Goecks, J., Nekrutenko, A., Taylor, J. et al. (2010) *Galaxy: a comprehensive approach for supporting accessible, reproducible, and transparent computational research in the life sciences*. *Genome Biol* 11(8), R86 DOI: [10.1186/gb-2010-11-8-r86](https://doi.org/10.1186/gb-2010-11-8-r86)
9. Hull, D. , Wolstencroft K. , Stevens R. , Goble C. , Pocock ,M.R. , Li P. , Oinn T. (2006) *Taverna: a tool for building and running workflows of services*. *Nucleic Acids Res.*, 34(2), W729–W732 DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkl320>
10. Okonechnikov K. , Golosova O. , Fursov M. , UGENE team (2012) *Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit* *Bioinformatics* 28(8), 1166–1167 DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts091>
11. Golosova O. , Henderson R., Vaskin Y. , Gabrielian A., Grekhov G. , Nagarajan V. , Oler A.J., Quinones M., Hurt Geoffrey J Barton (2009) *Jalview Version 2—a multiple sequence alignment editor and analysis workbench*. *Bioinformatics*, 25(9), 1189–1191. DOI: [10.1093/bioinformatics/btp033](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp033)
12. D., , Fursov M., Huyen Y. (2014) Unipro UGENE NGS pipelines and components for variant calling, RNA-seq and ChIP-seq data analyses. *PeerJ* e644 DOI: <https://doi.org/10.7717/peerj.644>
13. Bavoil, L., Callahan, S.P., Crossno, P.J., Freire, J., Scheidegger, C.E., Silva, C.T., Vo, H.T. (2005). *VisTrails: etkileşimli çoklu görünüm görselleştirmelerini etkinleştirme*. *VIS 05. IEEE Görselleştirme*, 135–142. doi: [10.1109/GÖRSEL.2005.1532788](https://doi.org/10.1109/GÖRSEL.2005.1532788).
14. Protsyuk I., Grekhov G., Tiunov A. , Fursov M. *Shared Bioinformatics Databases within the Unipro UGENE Platform* *Journal of Integrative Bioinformatics* 12(1), 257 DOI: [10.2390/biecoll-jib-2015-257](https://doi.org/10.2390/biecoll-jib-2015-257)
15. Edgar, R.C. (2004) *MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput*. *Nucleic Acids Res.*, 32(5), 1792–1797 DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkh439>

- <https://doi.org/10.1093/nar/gkh340>
16. Kim D. Pruitt, Tatiana Tatusova, Donna R. Maglott, NCBI Reference
 17. Peterson S., Shepherd, M., Farrell, J., Rhon, D. I. (2022) The Blind Men, the Elephant, and the Continuing Education Course: Why Higher Standards Are Needed in Physical Therapist
 19. Li, H.; Handsaker, B.; Wysoker, A.; Fennell, T.; Ruan, J.; Homer, N.; Marth, G.; Abecasis, G.; Durbin, R. (2009). "The Sequence Alignment/Map format and SAMtools" (PDF). *Bioinformatics*. **25** (16): 2078–2079. doi:10.1093/bioinformatics/btp352
 20. Rose R, Golosova O, Sukhomlinov D, Tiunov A, Prosperi M. **Flexible design of multiple metagenomics classification pipelines with UGENE**. *Bioinformatics*, bty901, 2018/10/25. doi:10.1093/bioinformatics/bty901
 21. Rose R, Golosova O, Sukhomlinov D, Tiunov A, Prosperi M. **Flexible design of multiple metagenomics classification pipelines with UGENE**. *Bioinformatics*, (2018). doi:10.1093/bioinformatics/bty901
 22. Efremov, I. E.; Fursov, M. Y; Danilova, Yu. E. (2009). "UGENE: high performance genome analysis suite". *Proceedings of the Fifth Moscow International Congress on Biotechnology*. **2**: 405–406. DOI: [978-5-7237-0372-8](https://doi.org/10.1093/nar/gkh340).
 - Sequence (RefSeq): a curated non-redundant sequence database of genomes, transcripts and proteins, *Nucleic Acids Professional Development* DOI: [10.2519/jospt.2022.11377](https://doi.org/10.2519/jospt.2022.11377)
 18. Madeira, F., Park, Y.M., Lee, J., Buso, N., Gur, T., Madhusoodanan, N., Basutkar, P., Tivey, ARN., Potter, SC., Finn, RD. and Lopez,
 23. <http://ugene.net/> Unipro ugene ulaşabilmek için tıklanması gereken link
 24. Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M., UGENE team (2012) *Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit* *Bioinformatics* 28(8), 1166–1167 DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts091>
 25. Langmead, B., Trapnell, C., Pop M., Salzberg, S. (2009) *Ultrafast and memory-efficient alignment of short DNA sequences to the human genome*. *Genome Biol.*, 10(3), R25 DOI: <https://doi.org/10.1186/gb-2009-10-3-r25>
 26. Rose R, Golosova O, Sukhomlinov D, Tiunov A, Prosperi M.(2018) *Flexible design of multiple metagenomics classification pipelines with UGENE*. *Bioinformatics*, 35(11), 1963–1965 DOI: [10.1093/bioinformatics/bty901](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty901)
 27. Pearson, W., Robins, G., Zhang, T.(1999)*Generalized neighbor-joining: more reliable phylogenetic tree reconstruction* *Affiliations expand Molecular Biology and Evolution* Jun;16(6):806–16.DOI: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026165>
 - Research, Volume 33, Issue suppl_1, 1 January 2005, Pages D501–D504,DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gki025>
 - R.(2019). **The EMBL-EBI search and sequence analysis tools APIs in 2019**. *Nucleic Acids Res*, 47(W1), W636–W641.DOI:<https://doi.org/10.1093/nar/gkz268>
 28. <https://www.uniprot.org> Uniprot sayfasına ulaşabilmek için tıklanması gereken link.
 29. <https://www.uniprot.org> ana sayfasına ulaşım link.
 30. <http://ugene.net/> Unipro ugene ulaşabilmek için tıklanması gereken link.
 31. Mura, C., McCrimmon, C.M, Vertrees, J., Sawaya, M.R. (2010) *An Introduction to Biomolecular Graphics*. *PLoS Comput Biol* 6(8): e1000918. DOI:<https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1000918>
 32. Pettersen, E. F., Goddard, T. D., Huang, C. C., Meng, E. C., Couch, G. S., Croll, T., Morris, J. H., & et al. (2021). *UCSF ChimeraX: Structure Visualization for Researchers, Educators, and Developers*. *Protein Science*, (pro.3943) DOI:<https://doi.org/10.1002/pro.3943>
 33. Goddard, T., Huang, C., Meng, E., Pettersen, E., Couch, G., Morris, J., Ferrin, T. (2017)*UCSF ChimeraX: Meeting modern challenges in visualization and analysis* *Protein Sci* 27(11), 14–25 DOI:<https://doi.org/10.1002/pro.3235>
 34. McNicholas, S., Potterton, E., Wilson, K.S., Noble, M.E. *Presenting your structures: the CCP4mg*

- molecular-graphics software. Acta Crystallogr D Biol Crystallogr.* 2011;67(4):386-394.
DOI:[10.1107/S0907444911007281](https://doi.org/10.1107/S0907444911007281)
35. Humphrey, W., Dalke, A., Schulten K. (1996) VMD: visual molecular Dynamics
Affiliations expand 14(1):33-8, 27-8.
DOI:[10.1016/0263-7855\(96\)00018-5](https://doi.org/10.1016/0263-7855(96)00018-5).
36. Lua R.C., Lichtarge, O.(2010) PyETV: a PyMOL evolutionary trace viewer to analyze functional site predictions in protein

- complexes. Bioinformatics.* 26(23):2981-2982.
DOI:[10.1093/bioinformatics/btq566](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq566)
37. Okonechnikov, K., Golosova, O., Fursov, M., the UGENE team (2012). Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit . *Bioinformatics* 28(8): 1166-1167.
DOI:[10.1093/bioinformatics/bts091](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts091)
38. Bilgiç, H. B., Ünlü, A. H., Aksulu, A., Bakirci, S., Hacilarlioglu, S., Eren, H., Weir, W., & Karagenç, T. (2017). Rekombinasyon Sonrasi Theileria annulata Populasyonlarında

Genetik Cesitliliğin Belirlenmesinde Kullanılacak Markerlerin Secimi: Selection of Genetic Markers to Determine Diversity in Theileria annulata Populations after Recombination. *Turkish Journal of Parasitology*, 41(1), 9+.
Link: <https://link.gale.com/apps/doc/A508694458/AONE?u=anon~838d00f6&sid=googleScholar&xid=5b1f97d8>

BIOINFORANGE