



Alınış tarihi(Received): 31.03.2017
Kabul tarihi (Accepted):21.08.2017

Baş editor/Editors-in-Chief: **Ebubekir ALTUNTAŞ**
Alan editörü/Area Editor: **İzzet KADIOĞLU**

DNA Dizilemenin Tarihsel Gelişimi

Mehmet Zeki KIZMAZ^a, İsmail Can PAYLAN^a, Semih ERKAN^{a,*}

^aEge Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 35100, İzmir-Türkiye
e-mail: mehmet.zeki.kizmaz@ege.edu.tr, ismail.paylan@ege.edu.tr

*: Sorumlu yazar, e-mail:semih.erkana@ege.edu.tr

ÖZET: Nükleik asit dizi analizi, çok çeşitli araştırma uygulamalarının ayrılmaz bir bileşenidir. Son 50 yıl boyunca araştırmacıların çoğu DNA ve RNA moleküllerinin dizi analizlerini gerçekleştiren teknik ve teknolojilerin üretilmesi için çaba harcamıştır. Bu süreçte küçük boyutlu moleküllerin dizilenmesinden tüm genomun dizilenmesine kadar uzanan çok büyük gelişmeler olmuştur. Bu makalede belirtilen zaman aralığında DNA dizilemenin temelini oluşturan önemli gelişmeler, dizilemede kullanılan tekniklerin ve teknolojilerin ortaya çıkışı ve gelişmeleri açıklanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: DNA dizileme, Yeni nesil dizileme, DNA dizilemenin tarihçesi

Historical Development of DNA Sequencing

ABSTRACT: Nucleic acid sequence analyzes is an integral part of a wide variety of research applications. For the past 50 years, researchers have been struggling to produce techniques and technologies that allow sequencing of DNA and RNA. This time interval has witnessed a tremendous improvement from these sequencing of small molecules to these sequencing of the entire genome. In this article, important developments that constitute the basis of DNA sequencing in this time period, the emergence and development of techniques and technologies used in sequencing are explained.

Keywords: DNA sequencing, Next generation sequencing, History of DNA sequencing

1. Giriş

Nükleik asitler (DNA, deoxy ribonucleic acid ve RNA, ribonucleic acid) canlılardaki hücrelerde meydana gelen metabolik olayların gerçekleştirilmesinde, kontrolünde rol alan ve kalıtımı sağlayan temel yapı taşı moleküllerdir. Nükleik asitler, nükleotit (pürin/pirimidin bazı + 5 karbonlu bir şeker + bir fosfat grubu) olarak adlandırılan basit birimlerden oluşurlar. Nükleik asit moleküllerindeki nükleotit bazları (adenin, guanin, sitozin, timin ve urasil) sırasının belirlenmesi DNA dizileme olarak adlandırılmaktadır.

Moleküler biyoloji biliminin hızla gelişmesiyle DNA çalışmaları ön plana çıkmış ve 1965 yılından bu yana farklı dizileme yollarına, değişik örnek hazırlama stratejilerine, immobilizasyona ve dizileme kimyasına sahip çok sayıda DNA dizileme yöntemleri geliştirilmiştir. Bu yöntemler biyoformatik yazılımlarla birleştirilerek biyolojik

araştırmalarda genom dizileme, teşhis-tanı, transkriptomik, ekolojik ve epidemiyolojik amaçlı çalışmalarda başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Elde edilen DNA dizileri genlerin yapısı ve genetik kontrol mekanizmaları hakkında birçok bilgi edinilmesine imkân sağlamaktadır. Günümüze kadar birçok canlı türünün tüm genom haritaları tanımlanmış, genlerinin yapısı ve organizasyonu hakkında önemli bilgiler elde edilmiştir.

2. DNA Dizilemenin Ortaya Çıkışı ve Yeni Nesil DNA Dizileme Sistemlerinden Önceki Dönem

İnsan varoluşundan beri çevresindeki olup biteni merak etmiş, anlamaya çalışmış ve bunu yaparken karşılaştığı zorlukları yeni keşiflerle aşmaya çalışmıştır. Geçmişten günümüze kadar bilim adamları tarafından gerçekleştirilen birbirini destekleyici ve tamamlayıcı nitelikteki araştırmalar günümüz teknolojilerinin temelini oluşturmuştur. Mendel'in 1866 yılında bezelye bitkileriyle yürüttüğü melezleme çalışmalarıyla kalıtımın ilkelerini ortaya çıkarması, Miescher'in 1868 yılında çekirdekte asit özelliğinde bazı maddelerin varlığına dikkat çekmesi, Avery ve arkadaşlarının 1944 yılında DNA'nın genetik bilgiyi aktardığına ilişkin ilk kanıtı elde etmesi, Watson ve Crick'in 1953 yılında DNA'nın çift sarmal yapısını keşfi ve diğer benzer araştırmalar nükleik asit dizileme sistemlerinin kökenini oluşturmuştur (Barba ve ark., 2014; Heather ve Chain, 2016). DNA'nın çift sarmal yapısının keşfinden 12 yıl sonra ilk kez Holley ve ark. (1965) maya hücresinden izole ettikleri 77 nükleotitlik alanin tRNA polinükleotinin dizilimini gerçekleştirmiştir. Bu araştırmacıların kullandıkları yöntem çok fazla iş gücü ve zaman harcamayı gerektiren bir yöntem olmasına rağmen sonraki on yıl içinde 100'den fazla tRNA molekülü ve bazı DNA parçalarının dizilemeleri tamamlanmıştır (Franca ve ark., 2002; Raj Bahndary ve Kohrer, 2006; Guzvic, 2013; Barba ve ark., 2014). Bir RNA molekülünün dizilenmesiyle başlayan bu süreç, DNA molekülünün dizilenmesini sağlayan yeni yöntemlerin geliştirilmesine ön ayak olmuştur.

Maxam ve Gilbert (1977) DNA molekülünün bazlara özgül kimyasallarla modifikasyonuna ve elektroforezle ayırımına dayanan kimyasal ayrışım yöntemini geliştirmişlerdir. Aynı yıl Sanger ve ark. (1977b) tarafından geliştirilen daha uzun DNA parçalarının dizilenmesine imkan sağlayan zincir sonlandırma yöntemi kullanılmaya başlanmıştır. Bu yöntem Maxam ve Gilbert yöntemine kıyasla daha verimli olduğu, daha az toksik kimyasal madde ve radyoaktivite gerektirdiği için kısa sürede hızla yaygınlaşmıştır. Sanger dizileme yönteminin temelinde DNA polimerazın dNTP'lerin (deoksiribonükleozittrifosfat) yanısıra deoksiribozun 3' pozisyonunda OH grubu taşımayan ddNTP'leri de (dideoksiribonükleozittrifosfat) substrat olarak kullanabilmesine dayanmaktadır. Sentezlenen DNA'ya bir ddNTP'nin katılması 3' pozisyonunda OH grubu olmadığı için sentezi durdurmakta ve daha sonra elde edilen farklı uzunluktaki DNA parçaları elektroforezle ayrıştırılarak baz tespiti yapılabilmektedir. Sanger zincir sonlandırma yöntemi; DNA teknolojisi, biyoteknoloji ve biyoenformatik alanındaki gelişmeler doğrultusunda modifiye edilmiş ve yeni nesil dizileme tekniklerinin ortaya çıkışına kadar en yaygın kullanılan yöntem olmuştur. Applied Biosystem Instruments (ABI) Sanger dizileme yöntemi temelli floresan boya ile işaretli dNTP'ler kullanılarak tek reaksiyonda dizilemeyi sağlayan ilk nesil otomatize DNA dizileme makinesini geliştirmiş ve daha sonra dizileme verilerinin toplanması, depolanması ve analizini sağlayan bilgisayar yazılımı ile kombine edilmiştir (Smith ve ark., 1986).

PCR teknolojisi (Saiki, 1985), thermalcycler cihazları ve *Thermus aquaticus* bakterisinden izole edilen sıcaklığa dayanıklı Taq polimerase enziminin 1985-1990 yılları arasında keşfi

ve kullanılmasıyla *De novo* (ön bilgiye gerek kalmadan) dizileme, daha önce kısmi genom dizilemesi yapılan canlıların genom haritalarının tamamlanması ve önemli görülen belirli bölgelerin tekrar dizilenmesi çalışmaları yapılmıştır (Franca ve ark., 2002). Reverse transcriptase enziminin 1970 yılında keşfi (Temin ve Mizutani, 1970; Baltimore, 1970), RNA'dan cDNA sentezlenmesine imkan sağlayarak RNA dizileme teknolojilerinin gelişmesini sağlamıştır. Adams ve ark. (1991) Sanger dizileme yöntemi ve 373A yarı-otomatik DNA dizileme cihazını kullanarak expressed sequence tags (ESTs) olarak adlandırılan her okumada ortalama 397 baz uzunlukta cDNA dizilemesi yapabilen bir sistem geliştirmişlerdir. Bu gelişmeler ve 1982'de GenBank'ın (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>) kurulmasıyla yeni milenyumun başına kadar çoğunluğu DNA dizisinden oluşan ve insan genomunun ilk taslağını kapsayan yüz binlerce genetik veri elde edilmiştir (IHGSC, 2001; Venter ve ark., 2001; Franca ve ark., 2002; Guzvic, 2013; Barba ve ark., 2014).

DNA ve RNA dizileme çalışmalarındaki ani artışın üç temel nedeni bulunduğu dikkati çekmektedir: Bunlar, yüksek hacimli dizileme yapabilen otomatik cihazların geliştirilmesi, dizileme merkezlerinin ve uluslararası konsorsiyumların ortaya çıkması ve bilgisayara dayalı donanım ve yazılımların geliştirilmesidir. TIGR (The Institute for Genomic Research) tarafından başlatılan çalışmalarla, random ve shotgun temelli otomatize dizileme cihazlarıyla 337 insan geni ve diğer canlılardan 48 homolog genin dizi analizi yapılmıştır (Adams ve ark., 1991). TIGR 1999 yılına kadar 83 milyon nükleotitlik cDNA dizi analizi, 87000 insan cDNA dizisi, *Haemophilus influenzae* (Fleischmann ve ark., 1995) ve *Mycoplasma genitalium* (Fraser ve ark., 1995) adlı organizmaların tüm genom dizilimini gerçekleştirmiştir. 2001 yılı sonuna kadar dizileme merkezleri ve uluslararası konsorsiyumlar (Amerika'da TIGR, İngiltere'de Sanger dizileme merkezi ve Japonya'da RIKEN) *Escherichia colive Bacillus subtilis* adlı bakterilerin, *Saccharomyces cerevisiae* maya hücresinin, *Caenorhabditis elegans* adlı nematodun, *Drosophila melanogaster* meyve sineği, *Arabidopsis thaliana* adlı bitkinin ve insan tüm genom dizilimini yapmışlardır (Stein, 2001). Çok pahalı ve zaman alan bir yöntem olmasına rağmen, Sanger dizileme yöntemi o zamana kadar en fazla kullanılan yöntem olmuştur. Bilim insanlarının çalışmaları neticesinde DNA dizileme, genomik sonrası döneme geçiş yapmış ve fonksiyonel genomik, SNPs (Single-nucleotide polymorphism) ve transkriptomik uygulamalar biyolojik araştırmaların geleceği olarak öngörülmüştür (Peltonen ve Mckusick, 2001; Kiechle ve Zhang, 2002).

Affymetrix ve Gene Chip microarrays firmalarının 1996 yılında kurulmasından sonraki on yılda, DNA array teknolojisi ile prokaryotik ve ökaryotik organizmalardaki değişik gen ifadesi araştırmaları hızlı bir gelişme göstermiştir (Zhu, 2003; Lenoir ve Giannella, 2006; Kulski ve ark., 2005). Bununla beraber, genomik ve RNA dizileme çalışmalarına devam edilmiş ve 2005 yılından sonra yeni dizileme yöntemleri çıkmaya devam etmiştir (Franca ve ark., 2002; Guzvic, 2013; Barba ve ark., 2014). Yeni nesil dizileme (YND) olarak bilinen bu yöntemlerin, Sanger dizileme yöntemiyle karşılaştırıldığında, aynı anda çok sayıda örneğin yüksek hacim ve doğrulukla dizilenmesini sağladığı görülmektedir. Bu yöntemler genom dizileme maliyetini 2001 yılından 2014 yılına gelindiğinde 100 milyon dolardan 10 bin dolara düşürmüştür (NHGRI, 2016).

3. Yeni Nesil DNA Dizileme Sistemlerinin Ortaya Çıkışı ve Gelişimi

Sanger dizileme yöntemiyle insan genomu ve belirli hayvan ve bitkilerin tüm genom dizilemesini kapsayan çok sayıda başarılar sağlanmıştır. Ancak, insan genom projesinin yürütülmesi sırasında karşılaşılan zorluklar nedeniyle bilim insanları, kısa sürede daha fazla dizileme yapabilen, daha ucuz ve doğruluk oranı daha yüksek yeni yöntemler geliştirme ihtiyacı duymuşlardır. Bu ihtiyaçlara karşılık farklı üniversiteler, enstitüler ve firmalarda çalışan araştırmacılar tarafından yeni DNA dizileme sistemleri geliştirmek için çaba harcanmıştır. Bu çabalar ve girişimler sonucunda Sanger dizileme yöntemi yerini Yeni Nesil Dizileme (YND) olarak adlandırılan daha gelişmiş yöntemlere bırakmıştır. Bu yeni yöntemlerle DNA parçalarının klonlanmasına ihtiyaç duyulmadan amplifiye olmuş tek zincir DNA'dan dizileme yapılabilmiş ve 25 bazdan 500 baza kadar değişen kısa DNA dizileri üretilerek, her koşulda birkaç yüz milyondan birkaç milyara kadar bazın tanımlanması gerçekleştirilebilmiştir. YND genel olarak DNA moleküllerinin rastgele kesilerek parçalara ayrılması (Fragmentation), DNA parçalarının adaptör diziler vasıtasıyla bağlanması (İmmobilization) ve genom kütüphanesinin oluşturulması (Genomic Library), solid bir yüzey veya emülsiyon damlalar içindeki boncuklar üzerinde genomik kütüphanenin amplifikasyonu (Amplification), dizileme (Sequencing) ve bilgisayar programıyla verilerin analizi (Data analysis) aşamalarından oluşmaktadır. Sanger dizileme yönteminden daha ucuz olmasına rağmen yüksek maliyetli oluşları ve elde edilen verilerin yorumlanması için gelişmiş bilgisayar yazılımlarına ihtiyaç duyulması bu yöntemlerin sınırlayıcı faktörleri arasında yer almıştır.

Lynx Therapeutics (USA) firması 2000 yılında Massively Parallel Signature Sequencing (MPSS) yöntemiyle YND teknolojisini ilk başlatan firma olmuştur. Bu Firma daha sonra Illumina (USA) tarafından satın alınmıştır.

454 Life Sciences firmasının 2004 yılında pirodizileme kimyasına dayalı geliştirmiş olduğu yöntem YND teknolojilerinin ikincisi olmuştur. Life Sciences Roche (Basel, Switzerland) firması tarafından satın alınmıştır. Pirodizileme; baz başına maliyet ve dizin okuma uzunluğu açısından Sanger'e göre daha avantajlıdır, buna karşın Illumina ve SOLİD ile karşılaştırıldığında bu özellikler yönünden birbirine benzerlik göstermektedir. 2005-2006 yıllarında DNA dizilemede devrim sayılan, 20 milyon baz (Mbp) dizileme kapasiteli 454 GS 20 Roche dizileme sistemi tanıtılmıştır. 2007 yılında bunun yerini 4 saatte 100 Mbp dizileme yapabilen GS FLX modeli almıştır. 2008 yılında bu model ile 400 Mbp dizileme kapasitesine ulaşılmıştır. Bu model daha sonra güncellenerek tek çalışmada 600 Mbp üzerinde dizileme yapabilen 454 GS-FLX+ Titanium dizileme sistemi olarak kullanılmıştır. Daha sonra Roche firması tarafından laboratuvarında kullanıma uygun GS Junior dizileme sistemi üretilmiştir (Life Sciences, 2007).

Solexa firması 2005 yılında sentez yoluyla dizilemeye dayalı reversibledye-terminators dizileme kimyasına sahip Genome Analyzer (GA) sistemini kullanıma sunmuştur. Solexa 2007 yılında Illumina (USA) firması tarafından satın alınmıştır. GAIIx sistemi her çalışmada 50 milyar baza (Bbp) kadar okuma yapabilmekte ve en son modeli her çalışmada 85 Bbp'e ulaşabilmiştir.

Sonraki yıl içinde Illumina firması HiSeq 2500, HiSeq 2000, HiSeq 1500 ve HiSeq 1000 modellerini kapsayan Hiseq dizileme sistemleri serisini geliştirmiş ve kullanıma sunmuştur. Bu modellerin çalışma süresi, okuma uzunluğu ve dizileme kapasitesi yönünden değişik özelliklere sahip olduğu görülmektedir. HiSeq 2500 modeli en büyük okuma uzunluğuna

sahip model olup, bir günde tüm insan genomunu dizileyebilecek kapasiteye sahiptir. Illumina firması ayrıca 2011 yılında Laboratuvarlarda kullanıma uygun HiSeq serisinin en iyisi sayılan MiSeq dizileme sistemini piyasaya sunmuştur. Bu sistem 10 saatte 1.5 Gbp (Gigabase) dizileme yapabilmektedir (Illumina, 2017).

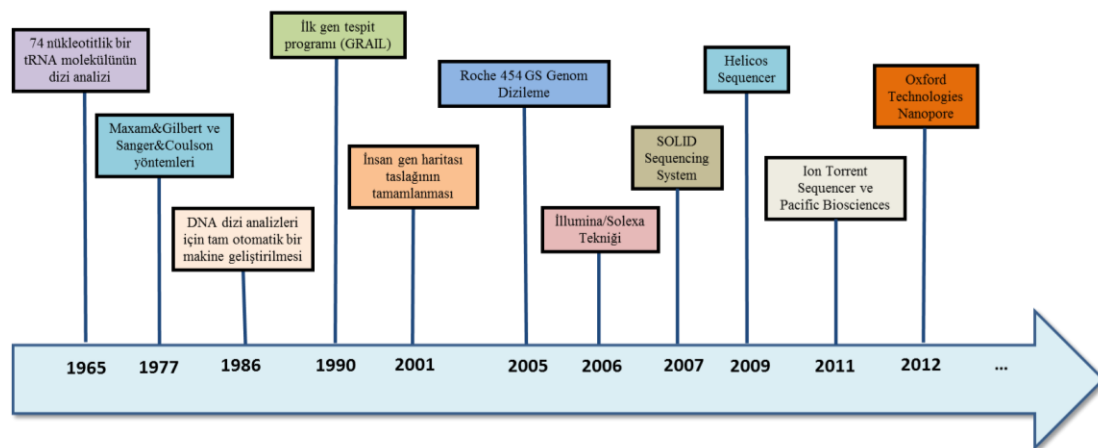
SOLiD Technology firması okuma uzunluğu ve hacmi yönünden Illumina dizileme sistemine benzer oligoligation detection kimyasına sahip bir yöntemi kullanmaya başlamıştır. SOLiD Techonology firması daha sonra Applied Biosystems (AB) tarafından satın alınmıştır. SOLiD dizileme sisteminde kullanılan ikili baz dizileme yöntemi sayesinde okuma doğruluğu %99.99'a ulaşabilmektedir.

AB tarafından 2007 yılında ilk SOLiD dizileme sistemi kullanıma sunulmuş, takiben 2010 yılında SOLiD 5500 w ve 5500 xlw modelleri kullanılmıştır. SOLiD 5500 xlw modeli, 85 bp okuma uzunluğu, % 99.99 okuma doğruluğu ve her çalışmada 30 Gbp dizileyebilme özelliklerine sahiptir (SOLiD, 2017).

Son yıllarda geliştirilen diğer YND sistemleri arasında yer alan Helicos sequencer 2009 yılında, Life Technologies Ion Torrent sequencer 2011 yılında, Pacific Biosciences (Menlo Park, CA, USA) single molecule real-time (smrt) sequencer 2011 yılında ve Oxford Technologies Nanopore (Oxford, UK) single molecule sequencer 2012 yıllarında kullanıma sunulmuştur (Ion-Torrent, 2017; PacBio, 2017; Nanopore, 2017).

Ayrıca, Polonator sequencing, Polony sequencing, DNA Nanoball sequencing ve VisiGen Biotechnologies sequencing sistemlerini kapsayan YND sistemleri geliştirme çalışmaları devam etmektedir.

İlk RNA molekülünün dizi analizinin gerçekleştirilmesini takiben günümüze kadar geçen süreçte geliştirilmiş olan ilk ve yeni nesil dizileme sistemleri Şekil 1'de özet biçimde verilmektedir.



Şekil 1. DNA dizileme sistemlerinin tarihsel gelişimi

Figure 1. The historical improvement of DNA sequencing systems

4. Sonuç

DNA ve RNA moleküllerinin kalıtımdaki rolleri ve canlılardaki yaşam fonksiyonlarındaki öneminin anlaşılmasıyla, 1950'li yıllardan itibaren DNA çalışmaları ön plana çıkmıştır. Dizileme çalışmaları ilk olarak RNA moleküllerinin dizi analiziyle başlamış sonradan gelişen tekniklerle birlikte DNA dizileme çalışmaları da yapılmaya başlanmıştır. DNA dizilemede ilk kullanılan yöntemler zaman alıcı, yoğun emek gerektiren ve pahalı yöntemlerdi. Araştırmacıların daha ucuz, daha hızlı ve daha duyarlı yöntemler geliştirmek için yürüttükleri çalışmalar neticesinde YND sistemleri ortaya çıkmıştır. 2000'li yılların başından bu yana farklı dizileme yollarına, çeşitli örnek hazırlama stratejilerine, immobilizasyona ve nükleik asit kimyasına sahip çok sayıda YND Sistemleri şu an ulaşılabilir durumdadır. Bu sistemler karmaşık biyoformatik yazılımlarla birleştirilerek çoğu bilim dalında genom dizileme, metagenomik, transkriptomik, amplikon çalışmalarında başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Son zamanlarda YND sistemlerini yaygınlaştırmak amacıyla laboratuvar tipi sistemler ön plana çıkmakta ve daha ekonomik, daha hızlı ve daha duyarlı sistemler geliştirmeye devam edilmektedir.

Kaynaklar

- Adams, M. D., Kelley, J. M., Gocayne, J. D., et al., 1991. Complementary DNA Sequencing: Expressed Sequence Tags and Human Genome Project. *Science*. 252(5013), 1651-1656.
- Baltimore, D., 1970. Viral RNA-dependent DNA Polymerase: RNA-dependent DNA Polymerase in Virions of RNA Tumour Viruses. *Nature*. 226(5252), 1209-1211.
- Barba, M., Czosnek, H., Hadidi, A., 2014. Historical Perspective, Development and Applications of Next-Generation Sequencing in Plant Virology. *Viruses*.6(1), 106-136.
- Fleischmann, R. D., Adams, M. D., White, O., et al., 1995. Whole-Genome Random Sequencing and Assembly of *Haemophilus influenzae* Rd. *Science*. 269(5223), 496-512.
- Franca, L.T.C., Carrilho, E., Kist, T.B., 2002. A review of DNA Sequencing Techniques. *Quarterly Reviews of Biophysics*. 35(2), 169-200.
- Fraser, C. M., Gocayne, J. D., White, O., et al, 1995. The Minimal Gene Complement of *Mycoplasma genitalium*. *Science*. 270(5235), 397-404.
- Guzvic, M., 2013. The History of DNA Sequencing. *Journal of Medical Biochemistry*. 32(4), 301-312.
- Heather, J. M., Chain, B., 2016. The Sequence of Sequencers: The History of Sequencing DNA. *Genomics*. 107(1), 1-8.
- Holley, R.W., Everett, G. A., Madison, J. T., Zamir, A., 1965. Nucleotide Sequences in the Yeast Alanine Transfer Ribonucleic Acid. *The Journal of Biological Chemistry*, 240(5), 2122-2128.
- IHGSC, 2001. International Human Genome Sequencing Consortium: Initial Sequencing and Analysis of the Human Genome. *Nature*. 409(6822), 860-921.
- Illumina, 2017. History of Illumina Sequencing. İnternet erişim: [<https://www.illumina.com/technology/next-generation-sequencing/solexa-technology.html>] Erişim tarihi: 17.03.2017.
- Ion-Torrent, 2017. Ion-Torrent Next-Generation Sequencing Workflow. İnternet erişim: [<http://www.thermofisher.com/tr/en/home/life-science/sequencing/next-generation-sequencing/ion-torrent-next-generation-sequencing-workflow.html>] Erişim tarihi: 17.03.2017.
- Kiechle, F. L., Zhang, X., 2002. The Post genomic Era: Implications for the Clinical Laboratory. *Archives of Pathology&Laboratory Medicine*. 126(3), 255-262.
- Maxam, A. M., Gilbert, W. A., 1977. A New Method for Sequencing DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 74(2), 560-564.
- Kulski, J.K., Kenworthy, W., Bellgard, M., et al., 2005. Gene Expression Profiling of Japanese Psoriatic Skin Reveals an Increased Activity in Molecular Stress and Immune Response Signals. *Journal of Molecular Medicine*. 83(12), 964-975.

- Lenoir, T., Giannella, E., 2006. Case Study: The Emergence and Diffusion of DNA Microarray Technology. *Journal of Biomedical Discovery and Collaboration*. 1(11), 39p.
- Life Sciences, 2007. a Roche Company. İnternet erişim: [<http://www.roche.com/investors/updates/inv-update-2007-03-29.html>] Erişim tarihi: 17.03.2017.
- Maxam, A. M., Gilbert, W. A., 1977. New Method for Sequencing DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 74(2), 560-564.
- Nanopore, 2017. Oxford Nanopore Technologies.
İnternet erişim: [<https://www.nanoporetech.com/>] Erişim tarihi: 17.03.2017.
- NHGRI, 2016. The Cost of Sequencing a Human Genome.
İnternet erişim: [<https://www.genome.gov/sequencingcosts>] Erişim tarihi: 17.03.2017.
- PacBio, 2017. Pacific Biosciences. İnternet erişim: [<http://www.pacb.com/>] Erişim tarihi: 17.07.2017.
- Peltonen, L., McKusick, V.A., 2001. Dissecting Human Disease in the Postgenomic Era. *Science*. 291(5507), 1224-1229.
- RajBhandary, U. L., Kohrer, C., 2006. Early Days of tRNA Research: Discovery, Function, Purification and Sequence Analysis. *Journal of Biosciences*. 31(4), 439-451.
- Saiki, R.K., Scharf, S., Faloona, F., et al., 1985. Enzymatic Amplification of Beta-globin Genomic Sequences and Restriction Site Analysis for Diagnosis of Sickle Cell Anemia. *Science*. 230(4732), 1350-1354.
- Sanger, F., Nicklen, S., Coulson, A.R., 1977b. DNA Sequencing with Chain-terminator Inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 74(12), 5463-5467.
- Smith, L.M., Sanders, J. Z., Kaiser, R.J., Hughes, P., Dodd, C., Connell, C.R., Heiner, C., Kent, S.B., Hood, L.E., 1986. Fluorescence Detection in Automated DNA Sequence Analysis. *Nature*, 321(6071), 674-679.
- Stein, L., 2001. Genome annotation: from Sequence to Biology. *Nature Reviews Genetics*. 2(7), 493-503.
- SOLID, 2017. SOLiD® Next-Generation Sequencing.
İnternet erişim: [<https://www.thermofisher.com/tr/en/home/life-science/sequencing/next-generation-sequencing/solid-next-generation-sequencing.html>] Erişim tarihi: 17.03.2017.
- Temin, H.M., Mizutani, S., 1970. RNA-dependent DNA Polymerase in Virions of Rous Sarcoma Virus. *Nature*. 226 (5252), 1211-1213.
- Venter, J.C., Adams, M.D., Myers, E.W., et al., 2001. The Sequence of the Human Genome. *Science*. 291(5507), 1304-1351.
- Zhu, T., 2003. Global Analysis of Gene Expression Using GeneChip Microarrays. *Current Opinion in Plant Biology*. 6(5), 418-425.