

T.C.

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**VERİ MADENCİLİĞİ İLE YENİ İLAÇ
HEDEFLERİNİN SAPTANMASINA YÖNELİK
İTERAKTOMİKLER: *in silico* BİR SENARYO**

BESTE UNCU

TRANSLASYONEL ONKOLOJİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İZMİR-2019

DEU.HSL.MSc –2017970111

T.C.

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**VERİ MADENCİLİĞİ İLE YENİ İLAÇ
HEDEFLERİNİN SAPTANMASINA YÖNELİK
İTERAKTOMİKLER: *in silico* BİR SENARYO**

TRANSLASYONEL ONKOLOJİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BESTE UNCU

Danışman Öğretim Üyesi: Prof. Dr. Yasemin BAŞBINAR

DEU.HSI.MSc –2017970111

Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Onkoloji Anabilim Dalı, Translasyonel Onkoloji Yüksek Lisans programı öğrencisi Beste UNCÜ 'VERİ MADENCİLİĞİ İLE YENİ İLAÇ HEDEFLERİNİN SAPTANMASINA YÖNELİK İNTERAKTİFİKLER: in silico BİR SENARYO' konulu Yüksek Lisans tezini 10/07/2019 tarihinde başarılı olarak tamamlamıştır.

Prof.Dr.Yasemin BAŞBİNAR

BAŞKAN

(Dokuz Eylül Üniversitesi

Onkoloji Enstitüsü)

Prof.Dr.Hülya ELLİDOKUZ

ÜYE

(Dokuz Eylül Üniversitesi

Onkoloji Enstitüsü)

Doç.Dr.Femin YALÇIN

ÜYE

(İzmir Katip Çelebi Üniversitesi

Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi)

Dr.Öğr. Üyesi Zerrin IŞIK

YEDEK ÜYE

(Dokuz Eylül Üniversitesi

Mühendislik Fakültesi)

Dr.Öğr. Üyesi Sıla Övgü KORKUT UYSAL

YEDEK ÜYE

(İzmir Katip Çelebi Üniversitesi

Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi)

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	i
TABLO DİZİNİ	vi
ŞEKİL DİZİNİ	vii
KISALTMALAR	ix
ÖZET	1
ABSTRACT	2
1. GİRİŞ VE AMAÇ	3
1.1. Problemin Tanımı ve Önemi	3
1.2. Araştırmanın Amacı	3
1.3. Araştırmanın Hipotezleri	3
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Kolorektal Kanserde Biyobelirteçler	4
2.1.1. RAS Gen Mutasyonları	4
2.1.2. RAF Gen Mutasyonları	5
2.1.3. APC/ β -katenin	5
2.1.4. POLE ve POLD1	5
2.2. Kolorektal Kanserde Bireyselleştirilmiş Tıp	6
2.3. Sistem Biyolojisi ve Omik Teknolojileri	6
2.3.1. Genom ve Genomikler	8
2.3.2. Transkriptom ve Transkriptomikler	8
2.3.2.1. Yeni Nesil Sekanslama Teknolojisi	9

2.3.3. Proteom ve Proteomikler	10
2.3.4. Metabolom ve Metabolomik	11
2.3.4. İnteraktom ve İnteraktomikler	11
2.4. Ağ Tabanlı Yaklaşımlar.....	13
2.4.1. Protein-Protein Etkileşimi	14
3. GEREÇ VE YÖNTEM	16
3.1. Araştırmanın Tipi	16
3.2. Araştırmanın Yeri ve Zamanı	16
3.3. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi	16
3.4. Çalışma Materyali.....	16
3.5. Araştırmanın Değişkenleri	16
3.6. Veri Toplama Araçları.....	16
3.6.1. Ham Transkriptom Veri Portalları	16
3.6.1.1. Sequence Read Archive (SRA)	17
3.6.1.2. The European Nucleotide Archive (ENA).....	17
3.6.1.3. ArrayExpress.....	18
3.6.1.4. DDBJ Sequence Read Archive (DRA).....	19
3.6.2. Yeni Nesil Sekanslama Teknolojilerinde Veri Ön İşleme Adımları.....	20
3.6.2.1. Veri Ön İşleme Yazılım Ortamları	20
3.6.2.2. SRA-downloader programı / ftp sitesi	21
3.6.2.3. Kalite Kontrol – FastQC	22

3.6.2.4. Budama - Sickle (Trimming)	23
3.6.2.5. Adaptör Temizleme - CutAdapt.....	23
3.6.2.6. Bowtie2 - İndeksleme	24
3.6.2.7. Samtools	25
3.6.2.8. Tophat - Haritalama.....	25
3.6.2.9. Salmon	26
3.7. Araştırma Planı ve Takvimi	27
3.8. Verilerin Değerlendirilmesi	27
3.8.1. EdgeR.....	27
3.8.2. Gen Seti Zenginleştirme Analizi (GSEA).....	28
3.8.2.1. DAVID	28
3.8.2.2. KEGG.....	29
3.8.2.1. Gen Ontoloji (GO).....	30
3.8.2.2. STRING.....	31
3.8.2.3. cBioPortal	32
3.8.2.4. PathfindR R paketi.....	33
3.8.3. Moleküler Doklama	33
3.9. Araştırmanın Sınırlılıkları	34
3.10. Etik Kurul Onayı	34
4. BULGULAR.....	35
4.1.Sayısal Gene Ekspresyon Verilerinin Analizi.....	35

4.2. Gen Seti Zenginleştirme Analizi.....	35
4.2.1. Gen Ontoloji (GO) Analiz Sonuçları	35
4.2.1.1. Biyolojik proseslerdeki rollerine göre	35
4.2.1.1.1. Ksenobiyotik glukuronidasyon(GO:0052697)	37
4.2.1.1.2. Glukuronosiltransferaz Aktivitesinin Negatif Düzenlenmesi (GO:1904224)	38
4.2.1.1.3. Hücresel Glukuronidasyonun Negatif Düzenlenmesi (GO:2001030)	38
4.2.1.1.4. Yağ Asidi Metabolik Sürecinin Negatif Düzenlenmesi (GO:0045922).....	38
4.2.1.1.5. Flavonoid Glukuronidasyon (GO:0052696)	38
4.2.1.1.6. Hücresel Glukuronidasyon (GO:0052695).....	39
4.2.1.1.7. Flavonoid Biyosentetik Proses (GO:0009813).....	39
4.2.1.1.8. Retinoik Asit Metabolik Süreci (GO:0042573)	39
4.2.1.1.9. Metabolik Proses (GO:0008152)	39
4.2.1.1.10. Ekstraselüler Matriks Organizasyonu (GO:0030198).....	39
4.2.1.2. Hücresel Komponentlerine Göre.....	40
4.2.1.2.1. Hücre Dışı Eksozom (GO:0070062).....	41
4.2.1.2.2. Mikrovillus (GO:0005902)	41
4.2.1.2.3. Hücre Yüzeyi (GO:0009986)	41
4.2.1.3. Moleküler Fonksiyonlarına Göre	42
4.2.2. KEGG Yolak Analizi.....	43
4.2.2.1. Pentoz Ve Glukuronat Dönüşümleri.....	44
4.2.2.2. Steroid Hormonu Biyosentezi	45

4.2.2.3. Porfirin ve Klorofil Metabolizması.....	46
4.2.3. Protein-Protein Etkileşim Analizi.....	48
4.2.3.1. Askorbat ve Alderat Metabolizması	48
4.2.3.2. Steroid Hormon Biyosentez Mekanizması	49
4.2.3.3. Retinol Metabolizması	51
4.2.3.4. Metabolik Yolak	53
4.2.3.5. ECM-reseptör Etkileşimi	56
4.2.3.6. Focal Adhesion.....	57
4.3. Moleküler Doklama	59
5. TARTIŞMA	61
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	64
7. KAYNAKLAR.....	66
8. EKLER	74
8.1.Etik Kurul Onayı	74
8.2.Özgeçmiş	76

TABLO DİZİNİ

Tablo 1. DEG'ler için gen ontoloji biyolojik proses sonuçları	36
Tablo 2. DEG'ler için gen ontoloji hücresel komponent sonuçları	40
Tablo 3. DEG'ler için gen ontoloji moleküler fonksiyon sonuçları	42
Tablo 4. KEGG yolak analizi sonuçları	43



ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1. Sequence Read Archive anasayfasının görünümü	17
Şekil 2. The European Nucleotide Archive veri portalının anasayfasının görünümü	18
Şekil 3. ArrayExpress genomik veri arşivinin anasayfa görünümü	19
Şekil 4. DNA Data Bank of Japan Sequence Read Archive anasayfa görünümü	20
Şekil 5. Linux-Ubuntu terminal ekranı görünümü	21
Şekil 6. RNA sekans ham veri dosyasının .fastq uzantılı formu	22
Şekil 7. FastQC programında veri girişi yapıldıktan iyi ve kötü okunmuş olan okuma parçalarının grafiksel olarak değerlendirilme ekranı	23
Şekil 8. The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery anasayfa görünümü ..	29
Şekil 9. Kyoto Gen ve Genom Ansiklopedisi anasayfa görünümü	30
Şekil 10. Gen Ontoloji anasayfa görünümü	31
Şekil 11. STRING anasayfa görünümü	32
Şekil 12. cBioPortal anasayfa görünümü	33
Şekil 13. Veri seti için anlamlı ekspresyona uğrayan moleküllerin yeşil renk ile belirtildiği pentoz ve glukuronat dönüşüm yolağı	45
Şekil 14. Anlamlı ekspresyon düzeyi için streod homon sentez yolağı	46
Şekil 15. Anlamlı ekspresyon düzeyi için porfirin ve klorofil metabolizma yolağı	47
Şekil 16. Ascorbate ve aldarate metabolizması için cBioPortal üzerinde ağ haritası gösterimi	48
Şekil 17. Ascorbate ve Aldarate Metabolizması İçin String Üzerinde PPI Gösterimi	49
Şekil 18. Steroid hormon biyosentez mekanizması için cBioPortal üzerinde ağ haritası gösterimi	50
Şekil 19. Steroid Hormon Biyosentez Mekanizması İçin STRING Üzerinde PPI Gösterimi	51

Şekil 20. Retinol metabolizması için cBioPortal üzerinde ağ haritası gösterimi	52
Şekil 21. Retinol metabolizması için STRING üzerinde PPI gösterimi.....	53
Şekil 22. Metabolik yolak için cBioPortal üzerinde ağ haritası gösterimi.....	54
Şekil 23. Metabolik yolak için STRING üzerinde PPI gösterimi	55
Şekil 24. Metabolik yolak için STRING üzerinde PPI gösterimi 2.....	55
Şekil 25. ECM-reseptör etkileşimi için cBioPortal üzerinde ağ haritası gösterimi	56
Şekil 26. ECM-reseptör etkileşimi için STRING üzerinde PPI gösterimi.....	57
Şekil 27. Focal Adhesion İçin cBioPortal üzerinde ağ haritası gösterimi	58
Şekil 28. Focal adhesion için STRING üzerinde PPI gösterimi	59
Şekil 29. CD44-HA moleküler doklama.....	60
Şekil 30. CD44-A6 moleküler doklama.....	60

KISALTMALAR

KRK: Kolorektal Kanser

IARC: Uluslararası Kanser Ajansı

HGP: Human Genome Project

SRA: Sequence Read Archive

ENA: The European Nucleotide Archive

DDBJ: DNA Data Bank of Japan

DRA: DDBJ Sequence Read Archive

GO: Gene Ontology

STRING: Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins system

KEGG: Kyoto Gen ve Genom Ansiklopedisi

DAVID: The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery

DEG: Differential Expression Gene

FC: Fold Change

PPI: Protein-Protein Intraction

CPM: Count Per Million

GSEA: Gene Set Enrichment Analyses

NGS: Next Generation Sequencing

ÖZET

VERİ MADENCİLİĞİ İLE YENİ İLAÇ HEDEFLERİNİN SAPTANMASINA YÖNELİK İNTERAKTOMİKLER: *in silico* BİR SENARYO

Beste UNCU

Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Onkoloji Anabilim Dalı 35340 İnciraltı
İzmir/TÜRKİYE

Yazışma adresi:besteuncu@gmail.com

Kanserin oluşumu sadece genetik mutasyonların oluşumuna bağlı olmayan kapsamlı bir süreçtir. Genellikle karmaşık hücresel ağlardaki (protein-protein etkileşim, transkripsiyonel düzenleyici ve metabolik ağlar gibi) bozulmalar sonucunda meydana gelirler. Kanser gibi karmaşık hastalıklar benzer bir fenotip gösterebilirler de izledikleri yollar her hastada farklılık göstermektedir. Bu çalışmada transkriptom analizi öncesinde ham halde bulunan RNA sekans verilerine ön işleme adımları gerçekleştirildi. Kolorektal kanserinin moleküler mekanizmaları hakkında detaylı bilgi sunan *in silico* analizler kullanıldı. Analiz edilebilir hale gelen RNA sekans veri üzerinde ekspresyon düzeylerine bakıldı ve istatistiksel olarak anlamlılık gösteren transkriptom analiz sonuçları ile hedef molekül ve yolak analizleri gerçekleştirildi. Potansiyel moleküller üzerinde protein-protein etkileşim ağları oluşturuldu. Analizler sonucunda kolorektal kanserinde hedef olabilecek yollar belirlenerek potansiyel ilaç hedefleri ve biyobelirteçler gösterildi. Ksenobiyotik glukuronidasyon mekanizmaları, UDP-glukuronosiltransferaz enzimleri, ilaç direnç mekanizmaları metastatik kolorektal kanseri ile ilişkili bulunmuştur. İlaç direnç metabolizmalarında özellikle UGT1A ailesi ve PPI ağına bağlı olarak CYP3A4 ilişkili bulunmuştur. CD44 ise KKR için aday ilaç hedefi olarak bulunmaktadır. Hastalığa özgü yeni ilaç hedefleri ve biyobelirteçlerin belirlenmesini sağlayan *in silico* yaklaşımı kolorektal kanserlerine yönelik yeni tanı ve kişiselleştirilmiş tıp tedavi yöntemlerinin tasarlanmasına olanak sağlayacaktır.

Anahtar kelimeler: *in silico*, interaktomikler, kolorektal kanser, moleküler doklama

ABSTRACT

INTERACTOMICS TO DETERMINE NEW DRUG TARGETS WITH DATA MINING: *IN SILICO* A SCENARIO

Beste UNCU

Dokuz Eylül University, Institute of Health Sciences, Department of Oncology 35340 İnciraltı
İzmir/TURKEY

Correspondence address: besteuncu@gmail.com

The occurrence of cancer is a comprehensive process that does not depend solely on the generation of genetic mutations. They usually occur as a result of disruptions in complex cellular networks (such as protein-protein interaction, transcriptional regulatory and metabolic networks). Although complex diseases such as cancer show a similar phenotype, the pathways they follow vary in each patient. In this study, pre-processing steps were performed on raw RNA sequence data prior to transcriptome analysis. *In silico* analysis was used to provide detailed information about the molecular mechanisms of colorectal cancer. Expression levels were analyzed on the RNA sequence data, which were became suitable for analysis. Target molecule and pathway analyzes were performed with statistically significant transcriptom analysis results. Protein-protein interaction networks were designed on potential molecules. As a result of the analyzes, biomarker and potential drug targets were shown by identifying the significant pathways in colorectal cancer. Xenobiotic glucuronidation mechanisms, UDP glucuronosyltransferase enzymes, drug resistance mechanisms have been found to be associated with metastatic colorectal cancer. CYP3A4 was found to be related to drug resistance metabolism especially due to UGT1A family and PPI network. CD44 is signified as a candidate drug target for CRC. The *in silico* approach, which enables the identification of new drug targets and biomarkers which are specific to the disease, will enable the design of new diagnostic and personalized medical treatment methods for colorectal cancers.

Keywords: *in silico*, interactomics, colorectal cancer, molecular docking

1. GİRİŞ VE AMAÇ

1.1. Problemin Tanımı ve Önemi

Kolorektal kanseri (KRK), Uluslararası Kansere Ajansı (IARC) tarafından yayınlanan Globocan 2018 verilerine göre erkeklerde hem Türkiye’de hem de dünyada üçüncü sırada, kadınlarda ise Türkiye’de üçüncü sırada yer alırken dünyada ikinci sırada yer almaktadır. Görülme sıklığı erkeklerde yüz binde 23,6 ve kadınlarda ise yüz binde 16,3 oranında görülmektedir [1,2].

Sağkalım istatistikleri, kanser tanısı alan hastaların sağkalımını, aynı yaş, ırk ve cinsiyette olan ve kanser tanısı almamış olan genel popülasyondaki insanların sağkalımı ile karşılaştırır. SEER verilerine göre 2009-2015 yılları arasında kolorektal kanser hastalarında 5 yıllık sağkalım % 64.4’dür [3].

1.2. Araştırmanın Amacı

Bu tezde, RNA sekanslama ile düzenlenen ve dünyada en sık görülen kanser tipleri arasında ikinci sırada olan kolorektal kanserinin oluşumunda ve ilerlemesinde önemli bir rol oynayan kişisel ve bölgesel yolların belirlenmesi amaçlanmaktadır. Gelecekteki çalışmalar için önerilen yollar kişiselleştirilmiş tedaviler için umut verici hedefler olabilir. Yan çalışma olarak, ayrıca tanı ve tedavi için aday moleküler biyobelirteçlerin sağlanması hedeflenmiştir.

1.3. Araştırmanın Hipotezleri

DLD1 kolorektal hücre hattından üretilen ana DLD1 hücre hattı ile DLD1 hücre hattından *soft agar colonies* ve *colonospheres* ile türetilen mezenşimal benzeri hücre hatları ve ksenograft akciğer metastazından türetilmiş hücre hatları arasında anlamlı bir farklılık olduğu hipotezini test edilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kolorektal Kanserde Biyobelirteçler

Kolorektal kanserler, kansere bağlı ölümlerin önde gelen nedenlerinden biridir ancak insidans ve mortalite son yıllarda azalmıştır. SEER verilerine göre yeni vaka gözlemlenme oranı 2006'da 46,7 iken 2016'da 36,7'dir. Mortalite oranları ise 2006'da 17,3 gözlenirken 2016'da 13,7 olarak görülmektedir. Bu erken tanı ve tarama yöntemlerinden kaynaklanmaktadır [4].

Kolorektal kanserin moleküler alt tiplerinde, DNA metilasyonu ve mikro-RNA biyogenezindeki son gelişmelerin kolorektal kanserde yer alması birçok yeni biyobelirtecinin tanımlanmasına yol açmıştır. Bu tür biyobelirteçler erken teşhis, kişiselleştirilmiş tedavi seçimi ve kolorektal kanser prognozu için kullanılabilmektedir [5].

Kolorektal kanserinin sayısız moleküler genetik çalışması, yüksek mutasyon sıklığı (*KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, *PIK3CA*, *APC*, *TP53*, *SMAD2*, *SMAD4*, *ARID1A*, *SOX9*, *FAM123B* / *WTX* ve *FBXW7*), kopya numarası değişiklikleri (*ERBB2* ve *IGF2*) metilasyon durumu değişiklikleri (*MLH1*) mRNA veya protein seviyesinde ekspresyonu ve translokasyonlarıyla (*NAV2* / *TCF7L1*) karakterize edilen birçok gen ortaya konmuştur. Oluşan bu değişiklikler, prognozu ve çeşitli ilaçlara duyarlılığı değerlendirmek için prediktif değere sahiptir [6].

2.1.1. RAS Gen Mutasyonları

RAS onkogeninin hücre büyümesi ve düzenlenmesinde önemli bir rolü vardır; protein ürünleri, hücre çoğalması, apoptoz, göç ve farklılaşma dâhil olmak üzere birçok hücresel işlevi etkilemektedir. *NRAS*, *HRAS* ve *KRAS* olarak bilinen üç insan izoformu vardır. Ras ailesinin tüm üyeleri, yakındaki bir transmembran reseptörü (örneğin, büyüme faktörü reseptörleri, G-proteinine bağlı reseptörler, vb.) karşılık gelen ligand ile bağlandığında aktif hale gelmektedir [7].

KRAS'daki nokta mutasyonları, kolorektal kanserin patogenezinde başlatıcı mutasyonlardan biri olarak tanımlandı. Aslında, *KRAS* mutasyonları adenomların %50'sinde gösterilmiştir ve adenomun kolorektal kansere ilerlemesi için gerekli anahtar bir genetik

modifikasyon olarak tanımlandı. Bu nedenle, çoğu *KRAS* mutasyonunun gelişiminin karsinogenezde erken evrede önemli bir rol oynadığı varsayılmaktadır [8].

2.1.2. RAF Gen Mutasyonları

Raf genleri ailesinde üç farklı serin / treonin kinaz bulunur (ARAF, BRAF, and RAF1). BRAF, *KRAS*'ın Ras / Raf / MAPK sinyalizasyon yolu içindeki doğrudan aşağı akış efektörüdür. BRAF gen mutasyonları yaşlanma, cinsiyet, proksimal kolon yerleşimi, müsinöz histoloji, infiltrate lenfositler ve ileri hastalığın evresi ile ilişkilidir [9].

BRAF, EGFR aracılı akış aşağı sinyal yolunda önemli bir rol oynamaktadır. RAS tarafından aktive edilir ve MAP kinaz yolunun aktivasyonu yoluyla hücre büyümesini, çoğalmasını ve farklılaşmasını etkiler, aynı zamanda apoptozu, hücre göçünü ve hayatta kalmayı etkilemektedir.

2.1.3. APC/ β -katenin

WNT sinyal yolağının aktivasyonunu kontrol eden APC geni üzerinde oluşan bozulmalar, kolorektal tümör genetik olaylardan biridir. APC geninin ürünü, gelişimi, kromozomal ayrışmayı, hücresel farklılaşmayı, polariteyi, yapışmayı, göçü ve ayrıca apoptozu düzenleyen büyük bir proteindir [9]. APC mutasyonları β -katenin birikimine neden olur, bu daha sonra c-Myc (hücre büyümesini ve bölünmesini kontrol eden birkaç geni aktive eden bir transkripsiyon faktörü) dâhil olmak üzere çeşitli genlerin ve onkogenlerin transkripsiyonel aktivasyonuna yol açmaktadır [10].

2.1.4. POLE ve POLD1

Germline mutasyonları, çok sayıda adenom ve erken başlangıçlı kolorektal vakaları olan ailelerde *POLE* ve *POLD1* genlerinde tanımlanmıştır. *POLE* geni, DNA replikasyonu sırasında önde gelen iplikçik sentezi yapan bir proteini kodlar. *POLE* eksonükleaz alanı ayrıca replikasyon kalitesini korumak için gerekli olan yeniden okuma kapasitesine sahiptir. *POLD1*, geciken iplikçik için benzer bir işlevi yerine getiren ve aynı zamanda uyumsuzluk ve baz eksizyon onarım yollarına katıldığı düşünülen bir proteini kodlamaktadır [11].

2.2. Kolorektal Kanserde Bireyselleştirilmiş Tıp

Bireyselleştirilmiş tıp, her bir hasta için spesifik özelliklerini analiz ederek ve modelleyerek optimize edilmiş teşhis ve tedavi stratejileri sağlamayı amaçlamaktadır. Kansere, hassas tıp yaklaşımları açısından en çok çalışılan hastalık gruplarından biridir. Bir bireyin tümörünü analiz ederek, tedavinin veya terapilerinin kombinasyonunun belirlenmesi en iyi sonucu verir ve bu yaklaşım tedavi şansını arttırırken tedavinin maliyetini düşürür [12]. İnsan Genom Projesi (HGP) 2001 yılında tamamlandığından ve yeni nesil sekanslama (NGS) teknikleri geliştirilip erişilebilir hale geldiğinden beri, kanser tedavisinde kişiselleştirilmiş ilaçların birçok uygulaması görüldü. İngiltere'deki 1000 Genom Projesi ve Türkiye Sağlık Enstitüleri (TÜSEB) liderliğindeki Türkiye Genom Projesi gibi dünya genelinde çeşitli büyük ölçekli genom sıralama projeleri yürütülmektedir. Bu projelerin temel amaçlarından biri, kişiselleştirilmiş tıbbın parçaları olan kişiselleştirilmiş hastalık geliştirme mekanizmalarının ve kişiselleştirilmiş tedavi hedefinin çalışılmasını sağlayan yeni yöntemler ve teknolojiler geliştirmektir [13].

2.3. Sistem Biyolojisi ve Omik Teknolojileri

Sistem biyolojisi, moleküler bileşenleri hesaplama modelleri ve yüksek verimli deneysel teknolojilerle birleştiren bütünleştirici bir disiplindir. Sistem biyolojisi, hücre alt bileşenlerinden gelen bilgi akışını çözmek için çok çeşitli nicel deneysel ve hesaplama metodolojilerini kullanır. Sistem biyolojisinde kullanılan hesaplama yöntemleri, hücreler, dokular, organlar ve organizmalar içindeki çeşitli ölçeklerde etkileşimleri ve dinamikleri anlamak için sistem düzeyinde bilgiler sağlar[14]. Sistem biyolojisi, genellikle in vitro deneylerle çalışılan alt sistemlere odaklanan moleküler biyolojinin aksine, tüm sistemi inceleyen bütüncül bir yaklaşım kullanır. Sistem biyolojisine iki farklı yaklaşım vardır: yukarıdan aşağıya sistem biyolojisinde, genellikle yüksek verimli üretilen farklı omik veri türleri, bütünleştirici bir şekilde analiz edilir ve aşağıdan yukarıya sistem biyolojisinde, örneğin enzimatik reaksiyonlar gibi spesifik işlemler için detaylı modeller, çalışılmakta olan sistemi tanımlayan bir modele entegre edilir. İki yaklaşım tamamlayıcıdır; yukarıdan aşağıya sistem biyolojisi, genom ölçeğinde hücresel fonksiyonların haritalandırılması için faydalı iken, aşağıdan yukarıya sistem biyolojisi, tek tek bileşenlerin toplam sistem özellikleri üzerindeki etkisinin ayrıntılı zaman çizelgesinde çözünürlüğünü sağlar. Her iki yaklaşım da, genellikle

biyolojik sistemin ortaya çıkan özelliklerinin tanımlanmasına izin verir. İndirgeyici bir yaklaşımla tanımlanamayan birçok farklı hücresel bileşen arasındaki etkileşimlerin, biyolojik fonksiyonlara nasıl yol açtığını gösterir[15].

Biyolojik özelliklerin çoğu, hücrenin proteinler, DNA, RNA ve küçük moleküller gibi sayısız bileşeni arasındaki karmaşık etkileşimlerden kaynaklanmaktadır. Bu nedenle, yirmi birinci yüzyılda biyoloji için önemli bir zorluk, canlı bir hücrenin yapısına ve işlevine katkıda bulunan etkileşimli karmaşık hücre ağının yapısını ve dinamiklerini anlamaktır. Çeşitli etkileşim ağları veya ağlar (protein-protein etkileşimi, sinyalleşme ve transkripsiyon düzenleyici ağlar dâhil bu etkileşimlerin toplamından ortaya çıkar. Bu ağların hiçbiri bağımsız değildir, bunun yerine hücrenin davranışından sorumlu bir 'ağ ağı' oluştururlar. Çağdaş biyolojinin en büyük zorluklarından biri, hücrenin davranışını kontrol eden çeşitli ağların topolojik ve dinamik özelliklerini belirlemek, anlamak ve modellemek için entegre bir teorik ve deneysel programa başlamaktır[16].

Sistem Biyoloji; bir doku, hücre veya organizma gibi biyolojik bir sistemin tümünün genomikten, metabolomiğe doğru tüm araçlar kullanılarak incelenmesi anlamına gelmektedir[17]. Bu bağlamda sistem biyolojisi omik teknolojilerinden bağımsız düşünülemez.

Omik teknolojileri, moleküler biyolojinin yeni mantığı haline gelmiştir. 'Omic' teknolojileri arasında genomik, transkriptomik (gen ekspresyon profili), proteomik ve metabolomik bulunur. Son zamanlarda elde edilmiş olan omik veri kütlelerinin mevcudiyeti, sistem biyolojisindeki büyük ölçüde büyümesinden sorumludur. İlaç şirketlerinin ve diğerlerinin, yenilik eksikliklerinin üstesinden gelinmesi için bir sonraki adımı atmak için tüm bu gizli bilgilerden anlam çıkarmaları gerekir. Sistem biyolojisi, bu atlamayı kolaylaştırmak için yöntemler, hesaplama yetenekleri ve disiplinlerarası uzmanlık sağlar. Genomik, transkriptomik, proteomik ve metabolomik teknoloji platformu yüksek verimli teknolojilerdir. Büyük ölçüde aynı anda saptanabilen ve kompleks karışımları gen ve protein ekspresyon profilleri şeklinde kompleks etkilerle ilişkilendirme potansiyeline sahip olan protein ve gen sayısını büyük ölçüde artırırlar. Farmasötik ve biyoteknoloji araştırma kuruluşları, çeşitli omik verilerini daha kapsamlı bilgisayar modellerinde birleştirmeye başladıkları ve biyoinformatik şirketleri, ilaç geliştiricileri ve tanılama şirketlerine sistem biyolojisi çözümleri sunma yolunda dikkatlerini çekmeye başladıkça, ticari uygulamalar hızla artmaktadır[18].

2.3.1. Genom ve Genomikler

Bir organizmanın eksiksiz DNA setine genom denir. Dört harfli dili ile DNA, tüm insan vücudunu oluşturmak için gereken bilgileri içerir. Bir gen, geleneksel olarak, spesifik bir protein veya protein seti yapmak için talimatları taşıyan DNA birimini belirtir. İnsan genomundaki tahmini 20.000 ila 25.000 genin her biri ortalama üç proteini kodlar.

Genomik, bu genlerin birbirleriyle ve insanın çevresiyle etkileşimlerini içeren, tüm genlerin (genom) incelenmesidir. Bir organizmanın/türün genomunda bulunan tüm genetik elementlerin belirlenmesi, dizi analizi ile birlikte haritasının çıkarılması gibi DNA yapısının ve işlevinin kapsamlı olarak incelenmesi genomik olarak açıklanmaktadır. Genetik, bir tek genin, genomik ise genomdaki tüm genlerin etki ve işleyişlerini inceleyen bilim alanıdır.

Genomik teknolojilerin gen dizilimi ve diziliş korunumu bilgisi ile birleştirilmesi, genetik varyasyonun biyolojik sonuçlarla korelasyonunu kolaylaştırarak yeni belirteçleri sağlamıştır ve omik teknolojiler, bireylerin kanser gelişimini ve spesifik tedavilere karşı duyarlılığı fonksiyonel yolların etkin biyokimyasal yeni belirteçlerin karakterizasyonunu sağlar. Gen transkriptlerinin, proteinlerin ve ara metabolitlerin verimli bir şekilde izlenmesi, çok sayıda anahtar hücresel yolun aynı anda izlenmesine olanak sağlamıştır. Bu, hücre büyümesi, hücre ölümü ve hücresel metabolizma ile ilgili temel biyobelirteçlerin ve sinyal moleküllerinin tanımlanmasını sağlamıştır. Bu yeni belirteçler fonksiyonel bozulma, moleküler ve hücre hasar ve hasar tepkisi izlenmesini kolaylaştırmaktadır. Geliştirilmiş görüntüleme teknolojileri, bu moleküler olayların bazılarını invaziv olmayan bir şekilde görüntülemeyi mümkün kılmıştır. Bu gelişmeler daha etkin farmasötik ürün geliştirme, daha güvenli ve daha etkili ilaçlar vaat etmekte ve klinik pratisyenlerine kanser taraması, hasta izleme ve tedavi seçimi için yeni ve daha iyi biyobelirteçler sunmaktadır[19].

2.3.2. Trankriptom ve Trankriptomikler

Transkriptomikler, üç milyar harflik insan genomundan RNA moleküllerine kopyalanan yaklaşık elli bini şu anda bilinen genlerin kapsamlı olarak taranması anlamına gelir. Her hücre, farklı fizyolojik koşullar altında ve gelişim sürecinde, farklı zamanlarda farklı genleri kullanır.

Genel olarak dokular, başka herhangi bir bilgi olmadan bu dokuları tanımlamak için kullanılabilecek benzer gen kümelerini ifade eder. Örneğin, beyin bilinen tüm genlerin yaklaşık yüzde otuzunu ifade eder; bu spesifik transkriptler kalpte transkripsiyon yapılmış genomdan farklıdır. Bu nedenle, ifade profillerine dayanarak moleküler imzaları tanımlayabiliriz ve bu profiller normal hücreleri veya dokuları doğru kategorilerine otomatik olarak ayırmak için kullanılabilir. Bu ifade profili oluşturma yöntemi hastalık durumlarında ve tanılama testleriyle de yapılabilir.

Transkriptomik, Northern blotların ayrı ayrı genlerin transkripsiyon analizi için kullanıldığı, gen fonksiyonunun daha klasik çalışmasına dayanır. Bununla birlikte, bir defada bir geni incelemek yerine, bu teknoloji ile bir kerede tanımlanmış bir hücre popülasyonunda herhangi bir zamanda mevcut olan haberci RNA moleküllerinin tamamı olan tüm transkriptomu analiz eder. Bu, aktif olarak kopyalanan tüm genlerin anlık bir resmini ortaya koyar ve teknik en azından kısmen kantitatif olduğundan, her genin ekspresyon seviyesini de anlatmaktadır. Örneğin, bu tür transkripsiyonel analizleri farklı çevresel koşullara maruz kalan bitkileri karşılaştırarak adaptif proseste yer alan tüm genleri hızlı bir şekilde tanımlamak mümkündür. Tüm genler ve çoğu protein, biyokimyasal bileşimi oluşturmak için bir araç olarak ve orada bir organizmanın fizyolojik kimliği ile kabul edilebilir[18].

Mikroarray teknolojilerinin ve diğer yüksek verimlilik stratejilerinin geliştirilmesi, biyolojide gittikçe daha fazla önem kazanıyor çünkü tek bir deneyde binlerce genin ekspresyon seviyesini izlemeye izin veriyorlar. Bu genetik profillerin biyolojisini yorumlamak için, bu verilerin kodlanan ilgili proteinler bağlamında analiz edilmesi gerekir. Bu, biyolojik, biyokimyasal veya moleküler fonksiyonları hakkında bilgi almak anlamına gelir. Bu nedenle, bu ifade profillerini biyolojik yorumlama için uygun bir şekilde karşılaştırmak ve analiz etmek için hesaplama araçlarının geliştirilmesi gerekmektedir[20].

Transkriptom analizi için hibridizasyon veya sekans bazlı yaklaşımlar dâhil olmak üzere çeşitli teknolojiler geliştirilmiştir.

2.3.2.1.Yeni Nesil Sekanslama Teknolojisi

Transkriptom analizi için sekans bazlı geliştirilen teknolojilerden biri yeni nesil sekanslama teknolojisidir. Transkriptom, bir hücredeki belirli gelişim evresi veya fizyolojik

durum için tam transkript seti ve miktarları olarak tanımlanır [21,20]. DNA mikrodizilerinin icadından bu yana, gen ekspresyonunun büyük ölçekli çalışmaları için tercih edilen teknoloji olmuştur. Bu dizilerin aynı anda on binlerce transkripsiyonu sorgulayabilme yeteneği, hastalıklı ve sağlıklı dokular arasında farklı olarak ifade edilen genlerin tanımlanması, gelişim süreçlerine yeni bakış açıları, farmakogenomik yanıtlar dâhil olmak üzere geniş bir yelpazedeki biyolojik problemlerin üstesinden gelmede önemli ilerlemeler sağlamıştır [23]. Günümüzde, mikrodiziler transkript profillemeye için en popüler yaklaşım olmaya devam etmektedir ve birçok laboratuvar tarafından kolayca karşılanabilir [24]. Mikro-dizi teknolojisine kıyasla, RNA-Seq daha geniş bir ölçüm aralığı sunar ve yeni transkriptlerin tespit edilmesini sağlar [21]. RNA-Seq, transkriptomları karakterize etmek ve ölçmek için yeni nesil sıralama teknolojisinin yeteneklerini kullanan yeni ve etkili bir tekniktir [25].

2.3.3. Proteom ve Proteomikler

Genomik bilginin büyümesi ve analitik teknolojiye gelişmelerle birlikte, proteomik birçok farklı yönden çalışılması için giderek daha önemli hale gelmiştir. Proteinler ana sinyalleme ve biyokimyasal yolların önemli bileşenleri olarak görev yaptıkları için, protein seviyelerindeki çalışmalar büyüme, gelişme ve çevre ile etkileşimlerin altında yatan moleküler mekanizmaları ortaya çıkarmak için önemlidir. HGP’de şaşırtıcı bir bulgu ile karşılaşmıştır, insan genomunda insan proteomundaki proteinlerden çok daha az protein kodlayan gen bulunmasıdır (20.000 ila 25.000 gen ve yaklaşık 1.000.000 protein). İnsan vücudu, her biri farklı işlevlere sahip 2 milyondan fazla protein içerebilir. Protein çeşitliliğinin, alternatif ekleme ve proteinlerin translasyon sonrası modifikasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir[18].

İnsan genomunun haritalandırılması ile proteomik, hızlı bir şekilde yeni bir araştırma alanı olmuştur. Proteomik, genomik verinin yerine geçecek şekilde tamamlayıcıdır. Genom, çalışması gereken proteinlerin kodlarını taşıyan bir organizmanın tüm genlerini tutar. Proteomik, proteinlerin hormon üretimi, bağışıklık sistemi tepkileri vb. biyolojik fonksiyon ve işlemlerin entegre çalışmasıdır. Protein yapısı ve protein - protein etkileşimleri gibi çalışmaların yapılmasını sağlar ve günümüzde biyomedikal ve ilaç geliştirme araştırmalarında bu bilim dalı büyük bir araç haline gelmektedir.

Proteom, belirli bir zamanda lokalizasyonları, etkileşimleri, post translasyonel modifikasyonları ile karakterize edilen bir hücrenin genel protein içeriği olarak tanımlanabilir. Genlerin fonksiyonel bilgilerinin çoğu, proteom ile karakterize edilir. Proteomik erken hastalık teşhisi, prognoz ve hastalık gelişimini izlemek için çok önemlidir. Ayrıca, ilaç geliştirmede hedef moleküller olarak önemli bir rolü vardır. Proteomik, herhangi bir aşamadaki proteinlerin ekspresyonu, yapısı, fonksiyonları, etkileşimleri ve modifikasyonları dâhil proteomun karakterizasyonudur [26].

Proteomik, metabolik sürecin asıl enzimleri hakkında bilgi verdiği için proteinler üzerinde kapsamlı araştırma yapmak için önemlidir. Bununla birlikte, genomik veya transkriptomiklerin aksine, proteomik teknikleri ve stratejileri hala büyük ölçüde gelişme aşamasındadır[27].

2.3.4. Metabolom ve Metabolomik

Metabolom ilk olarak Olivier ve ark. tarafından hücre, doku, organ veya organizmanın fizyolojisine, gelişimine veya patolojik durumuna göre değişen, bağlam bağımlı olan metabolitlerin / düşük moleküler ağırlıklı bileşiklerin tamamı olarak tanımlandı[28].

Metabolitler, hücresel düzenleme işlemlerinin son ürünleridir. Metabolitlerin seviyeleri biyolojik sistemlerin genetik ve çevresel değişikliklere karşı son tepkisidir. Transkriptom ve proteom terimlerine paralel olarak, metabolitlere “metabolom” adı verilir. Metabolomik, bir organizmadaki tüm küçük moleküllerin kapsamlı, kalitatif ve kantitatif bir çalışmasıdır. Burada küçük molekülün tanımı yaklaşık 1500 daltondan(Da) küçük veya 1500 Da eşit olan moleküllerdir. Bu nedenle metaboliklerin incelenmesi, amino asitlerin ve şekerlerin polimerlerini içermez. Bunun yerine, önemli metabolik fonksiyonlara katılan ve sinyal molekülleri veya sekonder metabolitler gibi kritik rolleri yerine getiren makromoleküler yapıları ve diğer küçük molekülleri oluşturmak için kullanılan aracı metabolitlere odaklanılır[29].

2.3.4. İnteraktom ve İnteraktomikler

İnteraktom, belirli bir hücre içinde gerçekleşen moleküler etkileşimlerin bütünüdür. İnteraktom terimi ilk olarak 1999'da Bernard Jacq başkanlığındaki bir grup Fransız bilim insanı

tarafından ortaya atıldı ve çoğunlukla biyolojik ağlar olarak tanımlandı [30]. İnteraktomikler, bir hücre içindeki proteinler ve diğer moleküller arasındaki etkileşimlerin sonuçlarını incelemekle ilgilenen biyoinformatik ve biyolojinin kesişimindeki bir disiplindir. Moleküler etkileşimler, farklı biyokimyasal ailelere ait moleküller arasında veya proteinler, nükleik asitler, lipitler ve karbonhidratlar gibi belirli bir aile içinde oluşabilir. İnteraktomikler biyolojik ağlar olarak tanımlanabilir ve en yaygın olarak interaktom, protein-protein etkileşimi ağı ve protein-DNA etkileşimi ağlarını (ayrıca gen düzenleyici ağlar olarak da bilinir) veya bunların alt kümelerini belirtir. Bu nedenle, tipik bir interaktom, transkripsiyon faktörlerini, kromatin düzenleyici proteinleri ve bunların hedef genlerini içerir. İnteraktomik yöntemler, bilhassa ilaç keşfi alanında, bilinen bir işlevi olmayan proteinlerin işlevini tahmin etmek için kullanılmaktadır [31].

Moleküler biyolojide bir interaktom, hücrelerdeki bütün moleküler etkileşimler kümesi olarak tanımlanır. Spesifik olarak, moleküller arasındaki fiziksel etkileşimler anlamına gelir ancak genler arasındaki dolaylı etkileşimler anlamına da gelebilir[32]. Hücresel fonksiyonlarına, DNA sekansları, RNA molekülleri, proteinler, lipitler ve küçük metabolitler arasındaki fiziksel, biyokimyasal ve fonksiyonel etkileşimlerin kompleks interaktom ağları aracılık eder. Hücresel işleyişin tam olarak anlaşılması, proteom ölçeğinde doğru ve tam interaktom ağ modellerini gerektirir.

Proteinler çoğu biyolojik süreçte önemli rol oynadıkları ve birbirleriyle etkileşimleri biyolojik fonksiyonları düzenlediği için belirli interaktomları anlamak son derece önemlidir. Son yıllarda protein-protein etkileşimlerini tespit etmek için bir takım yaklaşımlar geliştirilmiştir. Bu yaklaşımlar kabaca üç gruba ayrılabilir: *in silico*, *in vivo* ve *in vitro*. Her grup birçok farklı teknolojiye sahiptir. *In silico* yöntemleri metin madenciliği ve hesaplama analizlerinden oluşan bilgisayar simülasyonu ile gerçekleştirilir. *In vivo* yöntemler arasında maya ikili hibrid (Y2H), protein fragmanı tamamlama deneyi (PCA) ve memeli protein-protein etkileşimi tuzağı (MAPPIT) bulunur. *In vitro* yöntemlerde, deneyler canlı bir organizmanın dışındaki kontrollü bir ortamda gerçekleştirilir ve tandem afinite saflaştırma kütle spektroskopisi (TAP-MS), protein mikroyarray ve lüminesans bazlı memeli interactome (LUMIER) gibi yöntemler içerir[33].

İnteraktom analizi, büyük ölçekte biyolojik moleküller arasındaki etkileşimlerin bir çalışmasıdır. Protein etkileşiminin yüksek verimli eşlemesi, organizmaların protein

etkileşiminin geniş çapta araştırılmasını sağlar. Sonuçta ortaya çıkan proteom çapında protein etkileşimi haritalarına protein ağları denir[34].

2.4. Ağ Tabanlı Yaklaşımlar

Ağ biyolojisi olarak adlandırılan ağ tabanlı sistem biyolojisi, farklı biyomoleküler ağları çalışabilmektedir ve matematik, bilgisayar bilimi ve biyoloji gibi kavramları biraraya getiren multidisipliner bir çalışma alanıdır. Ağ biyolojisinin amacı, hücresel mekanizmaların genler, proteinler ve metabolitler arasındaki şebekelerden kaynaklanan biyolojik fenotipleri nasıl sağladığını araştırmaktır. Ağ biyolojisindeki hızlandırılmış buluşlar, hücresel mekanizma anlayışımızı geliştiren yüksek verimli verileri analiz etmek ve böylece biyoinformatik çalışmalarda önemli müdahaleleri kolaylaştırmak için değerli akış şemaları sunar[35].

Genomik, transkriptomik, proteomik ve metabolomik içeren omik araçlar ve ağ temelli yaklaşımlar sayesinde karmaşık hastalıklar üzerine çalışan araştırmacılar geleneksel tekniklerden sistem biyolojisi yöntemlerine yönelmektedir. Her ne kadar deneysel biyolojiyi, yani moleküler biyolojiyi ve genetiği içeren geleneksel biyotıp, hastalıkların moleküler mekanizmalarını vurgulamak için önemli ilerlemeler sağlamış olsa da, bu deneysel yöntemler, tek tek genlerin ve proteinlerin, karmaşık hastalıkların mekanizmalarını aydınlatmak için yeterli olmayan rollerini araştırmaya dayanmaktadır[36].

Ağ tabanlı sistemler biyolojisi, birkaç bileşen arasındaki doğrusal olmayan etkileşimleri yorumlamak ve hücresel ağların dinamik yapısını analiz ederek fenotipik değişiklikleri ayırt etmek için yeni yaklaşımlar sunar. Ayrıca, hücresel yolların ve ağların belirlenmesi ve çevresel değişikliklerin bunlara etkileri yoluyla karmaşık hastalıkları aydınlatmaktadır [37].

Ağ tabanlı yaklaşımlar çok faktörlü hastalıklara önemli biyolojik öngörüler sağlar. Biyolojik fonksiyonları anlamak için ilk adım bir ağın topolojik analizidir. Düğümler, kenarlar, yerel yapılar (yani motifler ve modüller) ve bir ağın geniş çaplı yapıları dâhil olmak üzere topolojik özellikleri, hastalıkla ilişkili genleri / gen ürünlerini ve alt ağları tespit etmek için paha biçilmez veriler sağlar. Ayrıca, ağ tabanlı yaklaşımlar aday ilaç hedeflerini ve karmaşık hastalıkların tedavisi için ilaç kombinasyonu sunmaktadır[38].

Ağ biyolojisine dayanan kanser tedavileri, umut verici birçok klinik uygulanabilirliğe sahiptir. Özellikle, merkez molekülleri (yüksek oranda bağlanmış düğümler) bir hastalık ağında biyobelirteçler olarak görev yapabilir ve kanser hücrelerinin koşullarının merkez moleküllerinin düzensizliği tarafından yönetildiği öne sürülmüştür. Hücrel ağların ve merkez moleküllerin analizi, kanserin erken aşamalarını ayırt etmek, yeni ilaç hedeflerinin belirlenebilmesi ve tanı biyobelirteçlerinin belirlenmesine olanak sağlamaktadır. Tek molekül hedefli tedavilerin bazı sınırlamaları vardır, çünkü biyolojik ağlar kanser hücrelerinde ortaya çıkan birçok hastalık modülünü içerir. Ek olarak, çoklu hedefli kanser tedaviler optimal değildir çünkü ağların yapısı dinamiktir ve homeostazı korumak için uyarıcı moleküle bağlı olarak değişmektedir. Ağ tabanlı bütünleştirici stratejiler, bir ağın durumlarını değiştiren yeni merkezler gibi belirli aracı molekülleri hedef almak için en elverişli yöntemdir. Bu nedenle, bu yöntemler özellikle merkezleri hedef alan ve ana hastalık modüllerini bozan klasik tedavilerin etkinliğini artırabilir [39].

2.4.1. Protein-Protein Etkileşimi

İnteraktomlarının deneysel haritalanmasındaki zorluklar ve sınırlamalar, protein fonksiyon açıklaması ve PPI ağlarını üretilebilmesi için protein-protein etkileşimlerinin *in silico* olarak tahminlenmesini zorunlu kılmıştır. Protein-protein etkileşimlerinin *in silico* kestirimi, iki proteinin etkileşip etkileşmediğini belirlemek için ikili bir sınıflandırma problemidir[40]. Bir protein-protein etkileşim ağı, veri kümelerinde bulunan düğümler arasındaki ilişkileri temsil etmenin bir yoludur. Genleri, proteinleri, küçük molekülleri veya modellenmekte olan sistemde etkileşime girebilecek herhangi başka bir varlığı temsil eden bu düğümlerin etkileşimin doğasını temsil eden kenarlarla bağlandığı bir grafik oluşturulur. Düğümler ve kenarlar çeşitli niteliklere ve açıklamalara sahip olabilir. Çalışmanın yapısına bağlı olarak, etkileşimler deneysel olarak belirlenebilir fiziksel ve kimyasal etkileşimler, genetik düzenleyici etkileşimler veya düğümleri birbirine bağlayan diğer bazı ortak özellikler gibi daha yüksek dereceli ilişkiler olabilir. Kenarlar, düğümler arasındaki bu etkileşimleri temsil eder ve bilgi mevcut olduğunda, kenarlar etkilerin hiyerarşisi hakkında bilgi sağlayan yönler ve ağırlıklara sahip olabilirler[41].

Kanser, çoklu sinyal ağlarının düzensizliğinden kaynaklanan çok faktörlü bir hastalıktır. Bu nedenle, kanserdeki altta yatan sinyal ağı değişikliklerinin belirlenmesi sadece

karsinogenезin moleküler mekanizmasını ortaya çıkarmak için değil, aynı zamanda tanı, prognoz ve tedavi stratejilerinde uygulanabilen sinyalleme ağlarının kansere özgü imzasını sınıflandırmak için de gereklidir[42][43]. Kanser ağları, ölçeksiz ağlar olarak tanımlanmıştır ve çok sayıda etkileşimciye bağlı bir merkez noktaları önemli rol oynar. Kanserle ilişkili ağların merkezleri, kanser tanısal belirteçlerine, prognostik belirteçlere ve ayrıca potansiyel terapötik hedeflere uygulama sunabilir. Bu nedenle, merkez proteinlerin tanımlanması, ilaç keşfi için umut verici bir strateji oluşturmaktadır. Merkez proteinlerinin diğer bir önemi, bu merkez noktaları biyobelirteç olarak potansiyel hedef oluşturur, bu nedenle merkez molekülü hedeflemek, kanser tedavisinin etkinliğini arttırmada etkili bir yol olmaktadır[39].



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Tipi

Bu çalışma tanımlayıcı bir araştırmadır.

3.2. Araştırmanın Yeri ve Zamanı

Tez araştırması Eylül 2018 tarihinde literatür tarama ile başlamış olup; Dokuz Eylül Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Translasyonel Onkoloji ABD’da Temmuz 2019 tarihinde tamamlanmıştır.

3.3. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi

SRA veri tabanından ulaşılan DLD1 kolorektal hücre hattından üretilen ana DLD1 hücre hattı, DLD1 hücre hattından *soft agar colonies* ve *colonospheres* ile türevlendirilen mezenşimal benzeri hücre hatları ve ksenograf akciğer metastasından türetilmiş olan 4 örnek araştırmanın örneklemi oluşturmaktadır.

3.4. Çalışma Materyali

Veri seti, serbest kullanıma açık büyük veri portalı olan GEO’den kolorektal kanseri hücre hattında çalışılan ham RNA sekans verisi olarak çekilmiştir (SRX2026295).

3.5. Araştırmanın Değişkenleri

Kolorektal kanseri üzerinde RNA sekans verisi içindeki metastatik hücre hattı bağımlı değişken, DLD1 bir hücre hattı üzerinde kullanılan diğer veriler bağımsız değişkenlerdir.

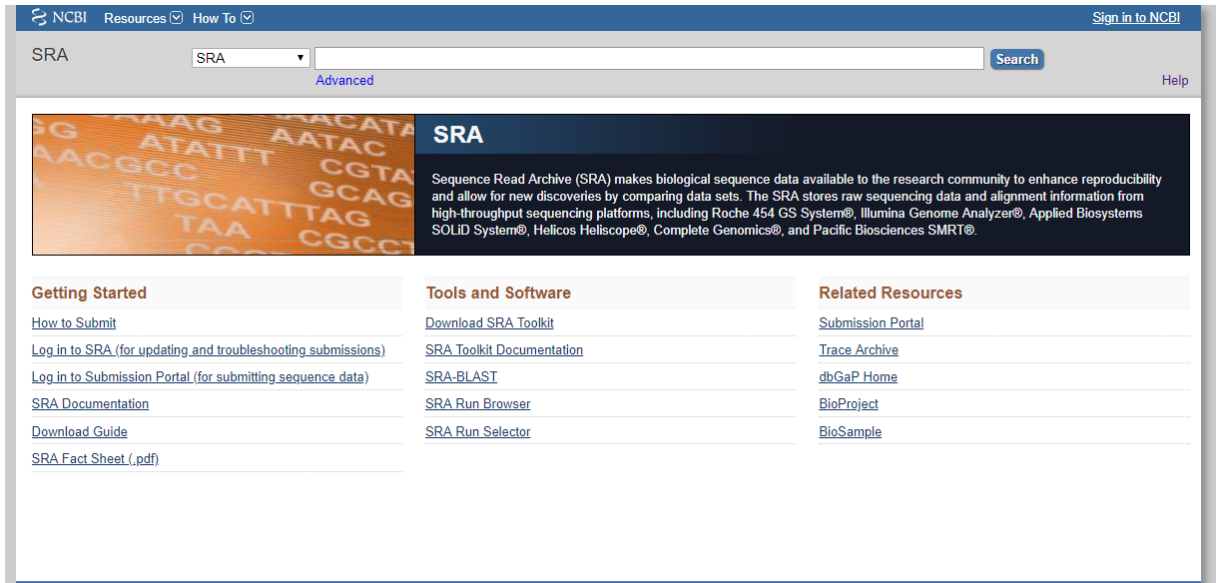
3.6. Veri Toplama Araçları

3.6.1. Ham Transkriptom Veri Portalları

Üretilen ham transkriptom verileri, büyük veri portallarında açık erişimli olarak çalışmacılara ulaştırılmaktadır. NCBI (National Center Biotechnology Institute)’ın altındaki SRA, GEO, EMBL(European Molecular Biology Laboratory) ‘nin çatısı altında ENA ve ArrayExpress veri arşiv tabanlarından ham transkriptom verilerine ulaşılabilir.

3.6.1.1. Sequence Read Archive (SRA)

SRA, tekrarlanabilirliği arttırmak ve veri setlerini karşılaştırarak yeni keşiflere izin vermek için araştırma topluluğu tarafından biyolojik sıra verilerini kullanılabilir hale getirir. SRA, Roche 454 GS Sistemi®, Illumina Genome Analyzer®, Applied Biosystems SOLiD System® dâhil, yüksek verimli sıralama platformlarından ham sıralama verilerini ve hizalama bilgilerini saklar(Şekil 1)[44].



Şekil 1. Sequence Read Archive anasayfasının görünümü

3.6.1.2. The European Nucleotide Archive (ENA)

The European Nucleotide Archive (ENA), ham dizileme verilerini, dizi birleştirme (assembly) bilgisini ve işlevsel açıklamaları kapsayan, nükleotid dizileme bilgi kayıtlarını kapsamlı bir şekilde sunar (Şekil 2) [45].

EMBL-EBI

Services Research Training About us

ENA
European Nucleotide Archive

Search

Examples: BN000065, histone

Advanced Search

Home Search & Browse Submit & Update Software About ENA Support

European Nucleotide Archive

The European Nucleotide Archive (ENA) provides a comprehensive record of the world's nucleotide sequencing information, covering raw sequencing data, sequence assembly information and functional annotation. [More about ENA](#)

Access to ENA data is provided through the browser, through search tools, large scale file download and through the API.

Text Search

Examples: BN000065, histone

search

[Advanced search](#)

Sequence Search

Enter or paste a nucleotide sequence or accession number

Search

[Advanced search](#)

Popular

- Submit and update
- Sequence submissions
- Genome assembly submissions
- Submitting environmental sequences
- Citing ENA data
- Rest URLs for data retrieval
- Rest URLs to search ENA

Latest ENA news

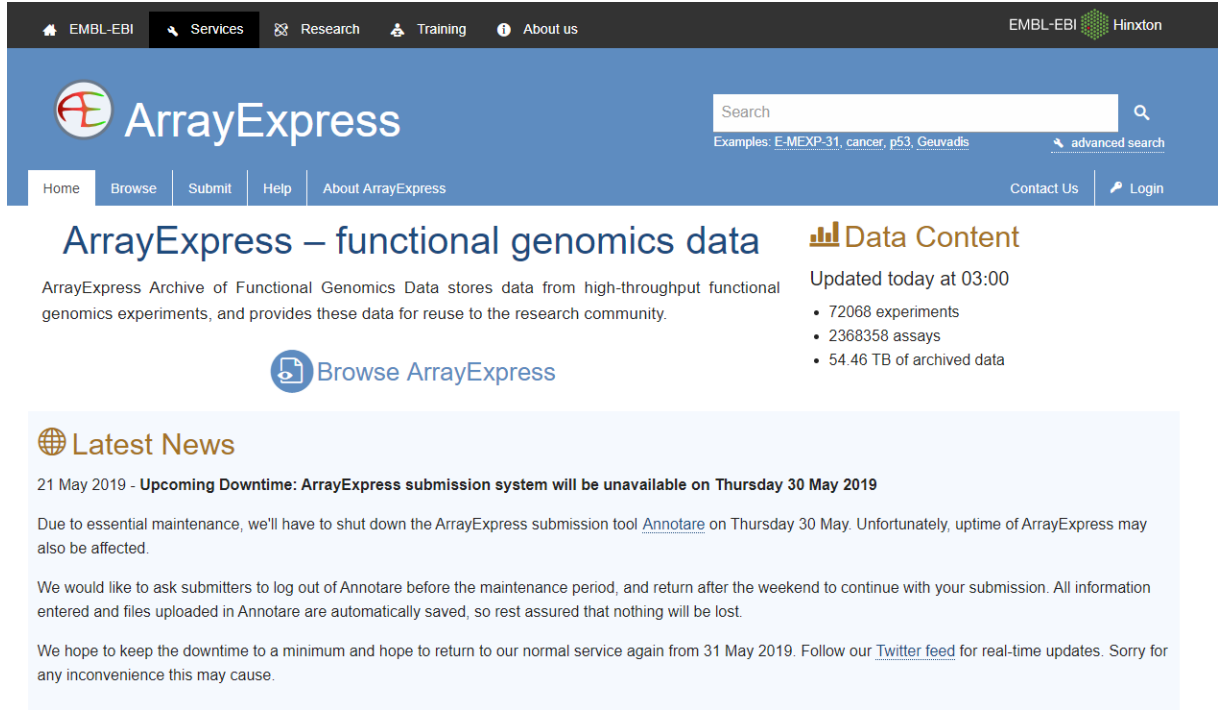
15 Apr 2019: [Release 139 of ENA's assembled/annotated sequences is now available](#)

Release 139 of assembled/annotated...

Şekil 2.The European Nucleotide Archive veri portalının anasayfasının görünümü

3.6.1.3. ArrayExpress

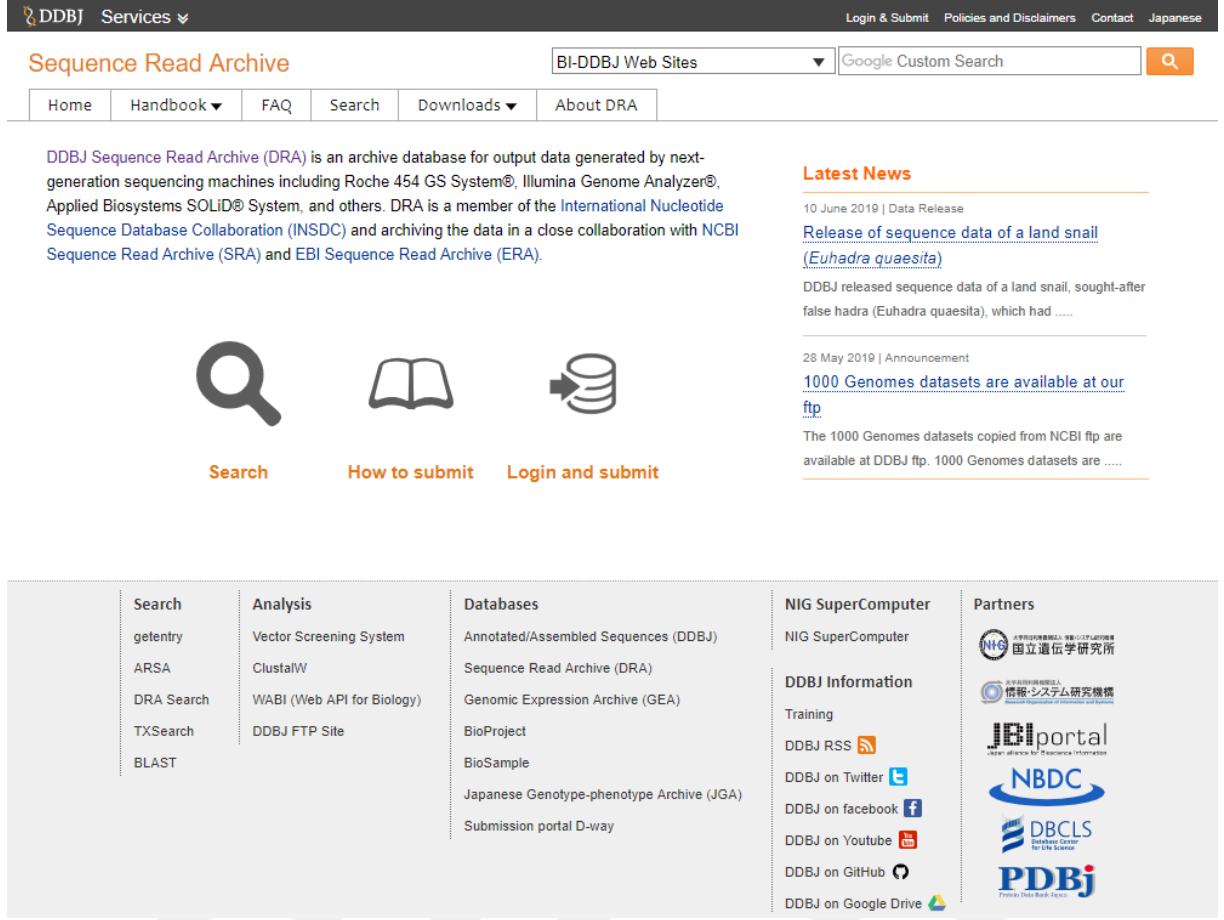
ArrayExpress, fonksiyonel genomik veri arşivi , yüksek verimli fonksiyonel genomik deneylerinden elde edilen verileri depolar ve bu verileri araştırma toplulukları için yeniden kullanımını sağlar. ArrayExpress, büyük bilimsel dergilerin, fonksiyonel genomik verileri mikroarray ve sıralama platformlarından arşivlemek için tekrarlanabilir araştırmaları desteklemek için tavsiye ettiği depolardan biridir. Deneyler doğrudan ArrayExpress'e gönderilir veya NCBI Gene Expression Omnibus veritabanından alınır. Yüksek verimli sıralamaya dayalı deneyler için ham veriler Avrupa Nükleotit Arşivi (ENA)'ne aktarılır, deney tanımları ve işlenen veriler ArrayExpress'te arşivlenir (Şekil 3) [46].



Şekil 3. ArrayExpress genomik veri arşivinin anasayfa görünümü

3.6.1.4. DDBJ Sequence Read Archive (DRA)

DDBJ Sequence Read Archive (DRA), Roche 454 GS Sistem®, Illumina Genome Analyzer®, Uygulamalı Biosystems SOLiD® Sistem ve diğerleri dahil olmak üzere yeni nesil dizileme makineleri tarafından üretilen çıktı verileri için bir arşiv veritabanıdır. DRA, Uluslararası Nükleotid Sıra Veri Tabanı İşbirliği (INSDC) üyesidir ve verileri NCBI Sıra Okuma Arşivi (SRA) ve EBI Sıra Okuma Arşivi (ERA) ile yakın bir işbirliği içinde arşivler (Şekil 4) [47].



Şekil 4. DNA Data Bank of Japan Sequence Read Archive anasayfa görünümü

3.6.2. Yeni Nesil Sekanslama Teknolojilerinde Veri Ön İşleme Adımları

3.6.2.1. Veri Ön İşleme Yazılım Ortamları

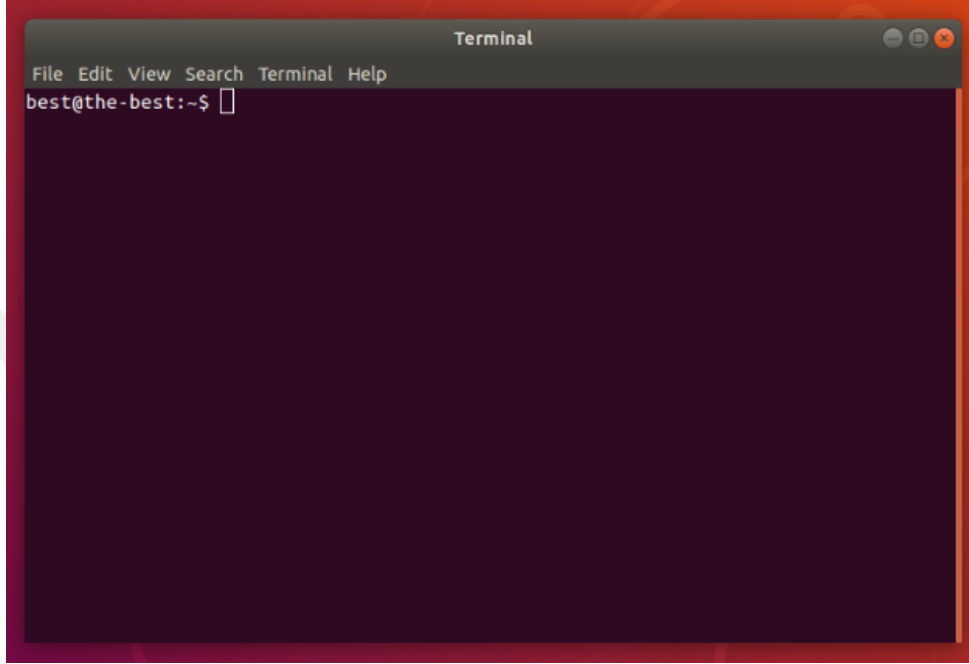
Elde edilen veya veri tabanlarından indirilen işlenmemiş transkriptom verileri ön işleme analizi araçları Linux-Ubuntu işletim sistemi üzerinde çalışacak şekilde geliştirilmiştir (Şekil 5). Bilgisayar ortamında genel olarak dört farklı şekilde bu yazılım ortamı oluşturulabilir ve gerekli araçlar çalıştırılabilir. Sadece Linux ortamı ile veya Windows kullanımından vazgeçmek istemeyenler için alternatif yöntemler bulunmaktadır.

-Bilgisayara Linux-Ubuntu işletim sisteminin kurulması ile araçlar kullanılabilir.

-Windows işletim sistemi içinde sanal makine (Virtual Machine) uygulaması kurularak kullanılabilir.

-Windows ve Linux-Ubuntu işletim sistemleri aynı makineye kurularak çift işletim sistemi (dual boot) kullanılabilir.

-Son yöntemde Windows 10 mağazasından Ubuntu uygulaması kurularak veri önileme araçları kullanılabilir.



Şekil 5. Linux-Ubuntu terminal ekranı görünümü

3.6.2.2. SRA-downloader programı / ftp sitesi

Bu araç yardımıyla ham veri indirilmektedir, ayrıca SRA, DDBJ gibi portalların .ftp siteleri üzerinden de veriler çekilebilmektedir.

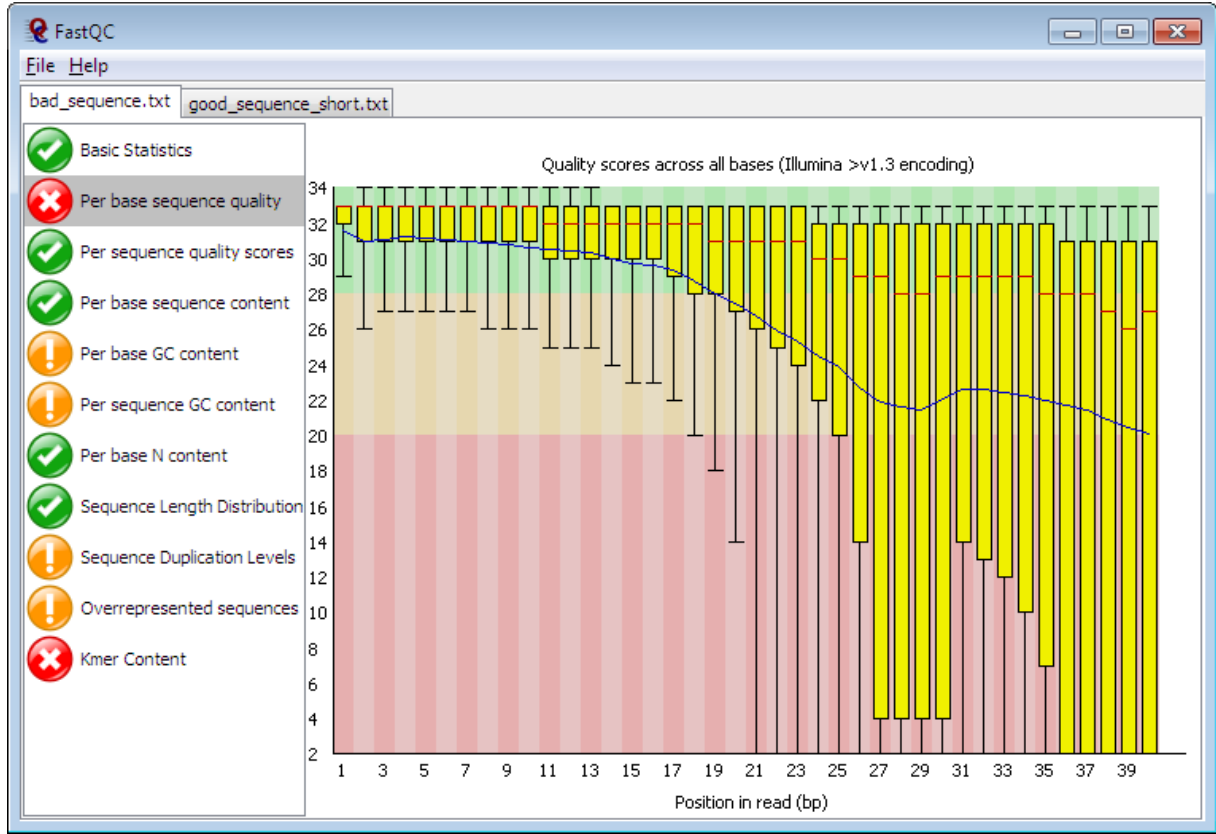
Aracın kurulması için gerekli kod;

```
>> sudo apt install sra-toolkit
```

İndirme işlemi için;

```
>> wget ftp://ftp-trace.ncbi.nih.gov/sra/sra-instant/reads/ByRun/sra/SRR/SRR403/SRR5004/SRR4035004.sra
```

Ardından indirilen veri .sra türünden .fastq formatına çevrilir (Şekil 6).



Şekil 7. FastQC programında veri girişi yapıldıktan iyi ve kötü okunmuş olan okuma parçalarının grafiksel olarak değerlendirilme ekranı

3.6.2.4. Budama - Sickle (Trimming)

Modern dizi teknolojilerinin çoğu, 3' ucuna ve bazıları 5' ucuna doğru kalitesi düşen okuma parçaları üretir. Her iki bölgedeki yanlış olarak adlandırılan bazlar birleştirmeleri, haritalamayı ve biyoinformatik analiz akışını olumsuz yönde etkiler. Sickle, yatay takipte kalite ve uzunluk eşiklerinin yanı sıra kalitenin okunan 3' ucunu kesmek için yeterince düşük olup olmadığını belirlemek ve aynı zamanda kalitenin okunan 5' ucunu kesecek kadar yüksek olup olmadığını belirlemek için kullanan bir araçtır [50].

3.6.2.5. Adaptör Temizleme - CutAdapt

CutAdapt okunan transkriptom parçalarında yer alan adaptörleri temizlemek için kullanılmaktadır. CutAdapt tek bir kerede birden çok adaptörü arayabilen ve en uygun olanı temizleyebilen bağımsız bir araçtır. Okumaların tek yönden yada çift yönden yapılmasına göre CutAdapt kodu farklılık göstermektedir. Eğer çift yönlü okuma gerçekleştirildiyse iki adaptör

bölgesi tanımlanmalıdır. Dizinin adaptör bilgisi FastQC programından veya verinin indirildiği portal üzerindeki açıklamalardan öğrenilebilir [51].

```
>> sudo apt install cutadapt
```

Tek yönlü adaptör bölgelerini temizlemek için;

```
>> cutadapt -a AACCGGTT -o output.fastq input.fastq
```

Çift yönlü adaptör bölgelerini temizlemek için;

```
>>cutadapt -a TGAGACACGCA -A AGGCACACAGGG -o output1.fastq -p  
output2.fastq input1.fastq input2.fastq
```

3.6.2.6. Bowtie2 - İndeksleme

Bowtie2, dizileri (aligned reads) uzun referans dizilerine hizalamak için ultra hızlı ve bellek açısından verimli bir araçtır. Özellikle uzun (örneğin, memeli) genomlarını hizalamakta başarılıdır. Adaptörlerinden temizlenen okuma parçalarının referans bir genom veya transkriptoma hizalaması gerekmektedir. Hizalanma yapılabilmesi için referansa ihtiyaç duyulmaktadır [52].

Günümüzde homo sapiens için en yeni referans hg38 olmasına rağmen öncesinden beri gelen çalışmalarda genellikle en yaygın kullanıma sahip olan hg19 referansı alındığından dolayı hg38 referansına geçmekte güçlük yaşanmaktadır. Tüm bunların yanı sıra referans seçiminde çalışmanın hangi RNA tipini incelediğinde önemlidir. Total RNA (cdna,cds,ncrna vb. ftp://ftp.ensembl.org/pub/release-86/fasta/homo_sapiens/) çalışmalarında bütün bölgelerin incelenmesi istendiği için tüm dosyaların birleştirilerek referans olarak verilmesi gerekmektedir. Fakat spesifik çalışmalarda tek bir referans ile çalışmalar yürütülmektedir [52]. Çeşitli bioinformatik araçlarından yararlanılarak hizalama işlemi gerçekleştirilebilir fakat burada donanımsal gereksimlerden dolayı bazı araçlar kullanılamayabilir. Örneğin; STAR aracı için memeli hizalamasında en az 16GB ram gerekmektedir [53].

Total RNA çalışabilmek için tek dosya altında verileri birleştirme;

```
>> cat ref-genom/*.fa > genomes.fa
```

Bowtie2 indeks veritabanı oluşturma;

```
>>bowtie2-build genomes.fa hsa
```

Bowtie2 eşlemesi;

```
>>bowtie2 -x hsa -1 cutadaptoutput1.fastq -2 cutadaptoutput2.fastq -U  
SAMPLE_single_reads.fastq -S SAMPLE.sam
```

3.6.2.7. Samtools

SAM (Sıra Hizalama / Harita) formatı, büyük nükleotit sekans hizalamalarını depolamak için genel bir formattır. SAM, şu şekilde bir format olmayı hedeflemektedir. Çeşitli hizalama programları tarafından oluşturulan tüm hizalama bilgilerini depolayacak kadar esneklik. Hizalama programları tarafından kolayca oluşturulabilecek veya var olan hizalama formatlarından kolayca dönüştürülebilir. Dosya boyutunda kompakt; hizalamadaki işlemlerin çoğunun, tüm hizalamayı belleğe yüklemekten bir akış üzerinde çalışmasına izin verir. Hizalanan tüm okumaları verimli bir şekilde almak için dosyanın genomik pozisyona göre indekslenmesine izin verir.

```
>>sudo apt install samtools
```

.Sam->.bam dönüşümü için;

```
>>samtools view -b -S SAMPLE.sam > SAMPLE.bam
```

.Bam dosyasını sıralama

```
>> samtools sort SAMPLE.bam -o SAMPLE_sorted.bam
```

3.6.2.8. Tophat - Haritalama

TopHat, RNA sekans deneylerinden elde edilen okuma parçalarını boşluksuz uç uca ekleyerek çalışan bir hizalayıcı bir ön-işleme aracıdır [54].

Kurulması için;

```
>>sudo apt install tophat
```

Hizalama işlemi için;

```
>>tophat hsa file_name.fastq
```

3.6.2.9. Salmon

Salmon, RNA seq verisini kullanarak transkriptlerin ifadesini ölçmek için geliştirilmiş bir araçtır. Salmon, çok hızlı ve çok az bellek kullanırken doğru ifade tahminleri sağlamak için yeni algoritmalar (özellikle yarı haritalama kavramını iki aşamalı bir çıkarım prosedürü ile birleştirerek) kullanır. Salmon, çıkarımını, gerçek RNA sekans verilerinde yaygın olarak gözlemlenen deneysel nitelikleri ve önyargıları hesaba katan, eksprese edici ve gerçekçi bir RNA sekans verisi modeli kullanarak gerçekleştirir. [55].

```
>>sudo apt install salmon
```

```
>>salmon index -t hsa.fa -i hsa_index
```

Program ön işleme sürecinin sonunda okuma parçalarını ölçmüş olacaktır.

```
>>salmon quant -t hsa.fa -l A -a count1.bam -o count1_tpm
```

3.7. Araştırma Planı ve Takvimi

Yapılacaklar	ZAMAN							Temmuz 2019
	Eylül 2018	Ekim 2018	Kasım 2018	Aralık 2019	Aralık - Şubat 2019	Şubat-Nisan 2019	Nisan-Haziran 2019	
<i>Literatür araştırması ve ön hazırlığın yapılması (Gerekli izinlerin alınması)</i>	X	X						
<i>Data portallarından veri tespiti ve verilerin kaydı</i>		X	X					
<i>Verilerin analizi ve değerlendirilmesi</i>				X	X			
<i>Yüksek Lisans Tezinin yazılması</i>						X	X	
<i>Tez Savunma sınavı</i>								X

3.8. Verilerin Değerlendirilmesi

3.8.1. EdgeR

EdgeR sütunları bağımsız kütüphanelerden ve satırları genlerden oluşan okuma parçalarının sayım verilerinin bulunduğu bir tablo üzerinde analiz yapmaktadır. Bu sayımlar, her bir gene hizalanan toplam okuma sayısını temsil eder. EdgeR, verileri DGEList olarak adlandırılan basit bir liste tabanlı veri nesnesinde saklar. R'daki herhangi bir liste gibi işlenebildiğinden bu tür bir nesnenin kullanımı tercih edilir[56].

Tüm kütüphanelerde sayıları çok düşük olan genler, diferansiyel ifade için çok az kanıt sağlar. Biyolojik bakış açısına göre, bir genin bir proteine çevrilmesi veya biyolojik olarak önemli olabilmesi için minimum düzeyde ifade edilmesi gerekir. Genel bir kural olarak, örnekler arasındaki kütüphane boyutlarındaki farklılıkları hesaba katılmadığından doğrudan

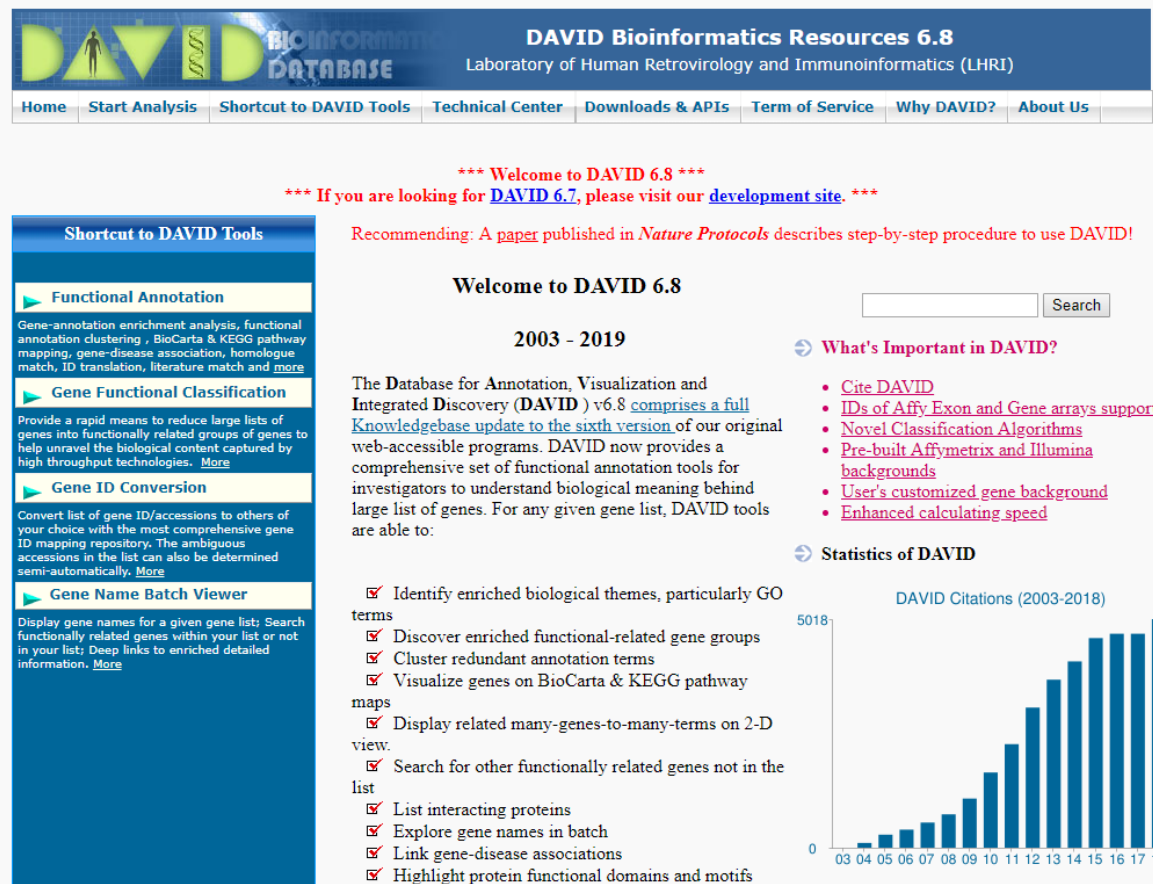
okuma parçalarının sayılarını filtrelemek yerine milyon başına sayımı (CPM) ile filtrelemelidir. Bu kavramda 1 CPM en küçük örnekteki yaklaşık 6-7 sayım verisine karşılık gelmektedir [56].

Normalizasyonun amacı, normalize edilmiş okuma sayımlarının gerçek ifade değerlerinden farkını sunmak içindir. Okuma sayımları arasındaki ilişki ne kadar düzgün ise normalizasyon o kadar doğrudur [57].

3.8.2. Gen Seti Zenginleştirme Analizi (GSEA)

3.8.2.1. DAVID

The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (DAVID) web üzerinden açık erişimli fonksiyonel anotasyon bilgi bankasıdır. DAVID, araştırmacılara geniş bir gen listesinden biyolojik anlamı anlamalarını sağlayan kapsamlı işlevsel açıklamaları sunmaktadır. GO terimleri, işlevsel açıdan ilişkili gen grupları, kümelenmiş anotasyon terimleri, genlerin BioCarta&KEGG yolak haritalarının görselleştirilmesi, genlerle ilişkili olan terimlerin gösterilmesi gibi amaçlarla kullanılmaktadır (Şekil 8) [58].



Şekil 8. The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery anasayfa görünümü

3.8.2.2. KEGG

Kyoto Gen ve Genom Ansiklopedisi (KEGG), gen fonksiyonlarını gen ve moleküler etkileşimlerin sistematik analizini sunan bilgi tabanıdır. KEGG bilinen metabolik yolların çoğunu ve bilinen düzenleyici yolların bir kısmını içeren biyokimyasal yolların grafik diyagramlarından oluşan web tabanlı açık erişimli yolak veritabanıdır. KEGG, bütün genom dizisinden biyokimyasal yolların yeniden yapılandırılması ve gen ifade profillerinden gen düzenleyici ağların öngörülmesi gibi çeşitli hesaplama araçları geliştirmekte ve sağlamaktadır (Şekil 9) [59].



[Help](#)
[» Japanese](#)

KEGG Home
[Release notes](#)
[Current statistics](#)
[Plea from KEGG](#)

KEGG Database
[KEGG overview](#)
[Searching KEGG](#)
[KEGG mapping](#)
[Color codes](#)

KEGG Objects
[Pathway maps](#)
[Brite hierarchies](#)
[KEGG DB links](#)

KEGG Software
[KEGG API](#)
[KGML](#)

KEGG FTP
[Subscription](#)

[GenomeNet](#)
[DBGET/LinkDB](#)
[Feedback](#)
[Copyright request](#)

[Kanehisa Labs](#)

KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes

KEGG is a database resource for understanding high-level functions and utilities of the biological system, such as the cell, the organism and the ecosystem, from molecular-level information, especially large-scale molecular datasets generated by genome sequencing and other high-throughput experimental technologies. See [Release notes](#) (May 1, 2019) for new and updated features.

- Main entry point to the KEGG web service**
[KEGG2](#) [KEGG Table of Contents](#) [\[Update notes | Release history\]](#)
- Data-oriented entry points**

KEGG PATHWAY	KEGG pathway maps
KEGG BRITE	BRITE hierarchies and tables
KEGG MODULE	KEGG modules
KEGG ORTHOLOGY	KO functional orthologs [Annotation]
KEGG GENOME	Genomes [Pathogen Virus Plant]
KEGG GENES	Genes and proteins [SeqData]
KEGG COMPOUND	Small molecules
KEGG GLYCAN	Glycans
KEGG REACTION	Biochemical reactions [RModule]
KEGG ENZYME	Enzyme nomenclature
KEGG NETWORK	Disease-related network elements
KEGG DISEASE	Human diseases [Cancer]
KEGG DRUG	Drugs [New drug approvals]
KEGG MEDICUS	Health information resource [Drug labels search]
- Organism-specific entry points**
[KEGG Organisms](#) Enter org code(s) [hsa](#) [hsa eco](#)
- Analysis tools**

KEGG Mapper	KEGG PATHWAY/BRITE/MODULE mapping tools
BlastKOALA	BLAST-based KO annotation and KEGG mapping

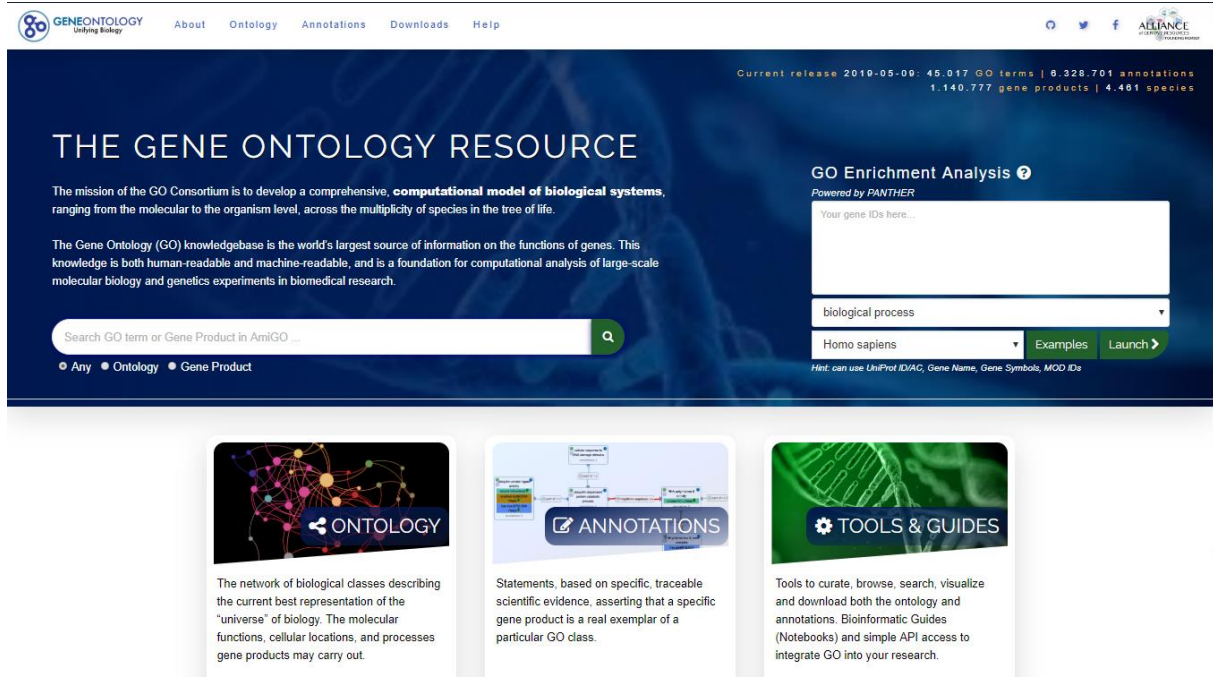
Classification
[Pathway](#)
[Brite](#)
[Brite table](#)
[Module](#)
[KO \(Function\)](#)
[Organism](#)
[Compound](#)
[Network](#)
[Disease \(ICD\)](#)
[Drug \(ATC\)](#)
[Drug \(Target\)](#)

Şekil 9. Kyoto Gen ve Genom Ansiklopedisi anasayfa görünümü

3.8.2.1. Gen Ontoloji (GO)

Gen Ontolojisi projesi, genlerin ve gen ürünlerinin işlevleri hakkında hesaplanabilir bilgi için şu anda mevcut olan en kapsamlı kaynağı sunmaktadır. Bu adıma kadar yapılan analizler sonucunda tanımlanan proteinlerin moleküler açıdan fonksiyonları, hücresel bileşen olarak hücredeki yeri ve biyolojik süreçlerdeki rolleri; biyoinformatik bir araç olan GO kullanılarak belirlenmiştir. GO, gen ontoloji konsorsiyumu tarafından oluşturulmuş çevrimiçi bir veri tabanıdır (<http://geneontology.org/>). RNA sekans analizleri sonucunda elde edilen gen

ve gen ürünleri GO analizleri ile moleküler, biyolojik ve hücresel açıdan gruplara ayrılarak kategorize edilmiştir (Şekil 10) [60].

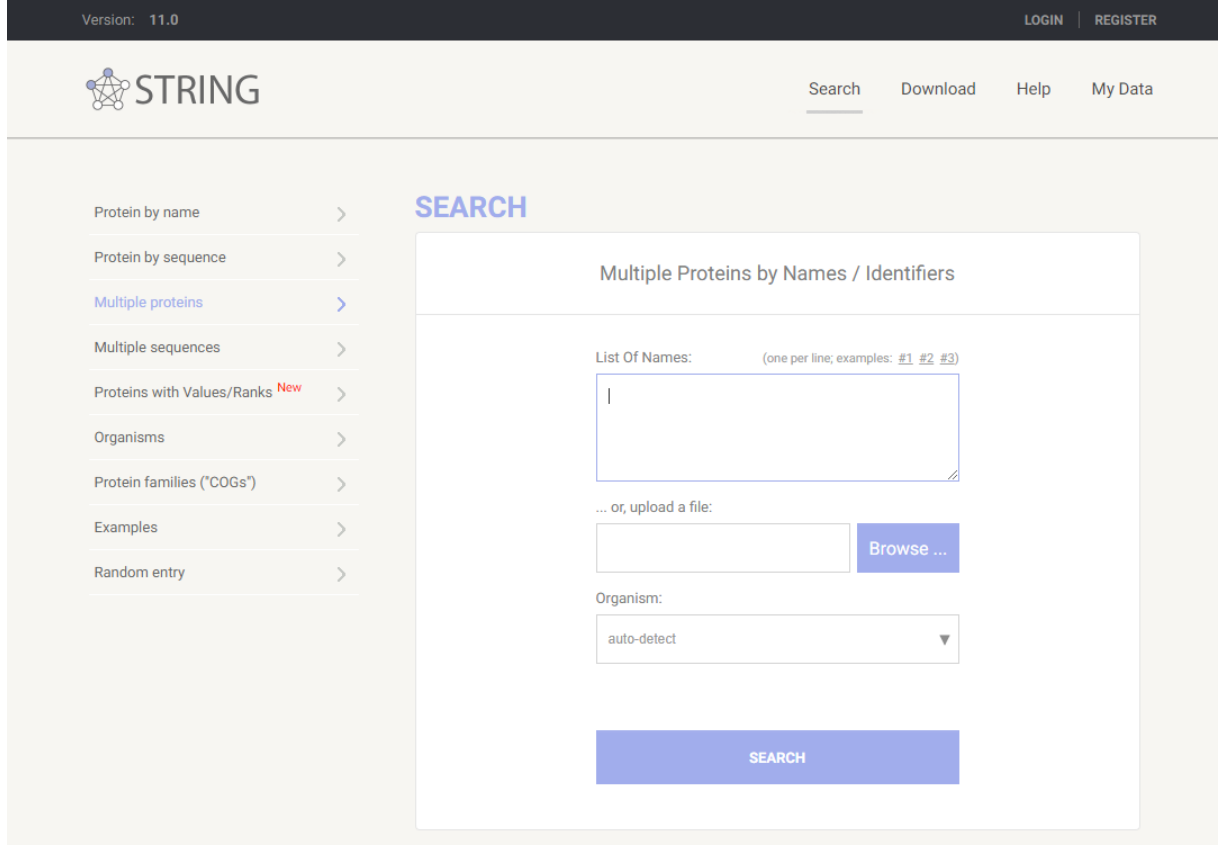


Şekil 10. Gen Ontoloji anasayfa görünümü

3.8.2.2. STRING

Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins System (STRING) veri tabanı, dolaylı (işlevsel) protein etkileşimlerin yanı sıra doğrudan (fiziksel) protein-protein etkileşimlerinin değerlendirmesini ve entegrasyonunu sağlayan bir veri tabanı olup, bu veri tabanına <http://string-db.org/> adresinden ulaşılabilir (Şekil 11) [61].

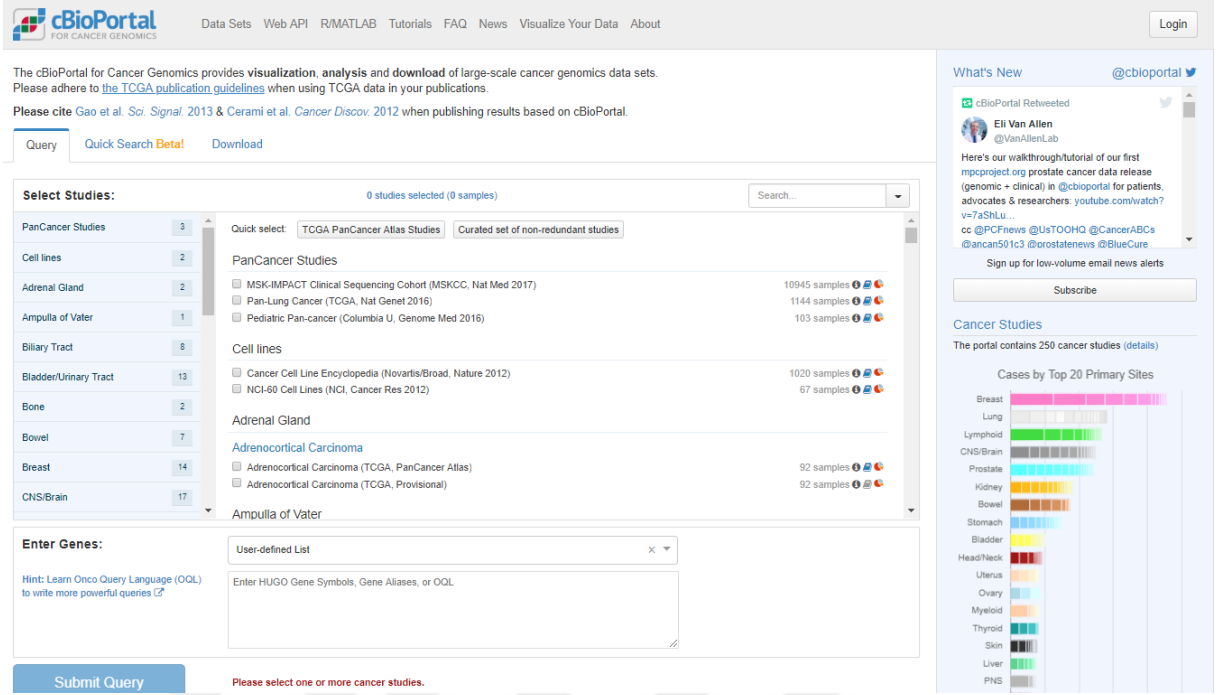
Transkriptom analizleri sonucunda metastatik olan hücre hattı ve metastatik olmayan hücre hatları arasında farklı ekspresyon seviyelerine sahip olan proteinlerin, birbiri ile olan ilişkilerinin belirlenmesinin yanı sıra, kolorektal kanserinde metastaz oluşumu ile olası ilişkilerinin belirlenmesi STRING yazılım sistemi sayesinde yapılmıştır. STRING analizleri ile hastalık ile ilişkili olabilecek tüm proteinlerin etkileşimleri tek bir harita üzerinde gösterilmiştir.



Şekil 11. STRING anasayfa görünümü

3.8.2.3. cBioPortal

CBioPortal for Cancer Genomics (<http://cbioportal.org>), çok boyutlu kanser genomik verilerini araştırmak, görselleştirmek ve analiz etmek için oluşturulan web portalıdır. Portal, kanser dokularından ve hücre çizgilerinden moleküler profil verilerini kolayca anlaşılabilir genetik, epigenetik, gen ekspresyonu ve proteomik olaylara indirgemektedir. Özelleştirilmiş veri depolama ile birleştirilen sorgu arayüzü, araştırmacıların örnekler, genler ve yollar arasındaki genetik değişiklikleri etkileşimli olarak keşfetmelerini ve temel verilerde mevcut olduğunda bunları klinik sonuçlarla ilişkilendirmelerini sağlar. Portal, çoklu platformlardan gen seviyesi verilerinin grafiksel özetlerini, ağ görselleştirme ve analizini, hayatta kalma analizini, hasta merkezli sorguları ve yazılım programlı erişimini sağlar (Şekil 12) [62].



Şekil 12. cBioPortal anasayfa görünümü

3.8.2.4. PathfindR R paketi

PathfindR, aktif alt ağları kullanan yol zenginleştirme analizi için bir araçtır. Kullanıcının sağladığı genlerin listesini kullanarak protein-protein etkileşim ağında aktif alt ağlar oluşturan gen kümelerini tanımlar. Tanımlanan gen setlerinde yol zenginleştirme analizleri gerçekleştirir. Pathview R paketini kullanarak, kullanıcı verilerini zenginleştirilmiş yollarda eşleştirir ve haritalanmış genlerle yol diyagramları oluşturur. Zenginleştirilmiş yolların çoğu genellikle biyolojik olarak ilişkilidir, pathfindR, bu yolları kümelemek ve kümelerdeki temsili yolları tanımlamak için işlevsellik sunar [63].

3.8.3. Moleküler Doklama

CD44 X-ışını kristali yapısal koordinatları, Protein Data Bank'tan temin edilmiştir [64]. CD44 makromolekül şablonu olarak 4MRD.PDB (2.55 Å çözünürlük) dosyası kullanılmıştır. In silico moleküler doklama çalışmaları PyRx-Pyron Prescription 0.8 Virtual tarama aracı ve AutoDock Vina ile yapılmıştır. Ligandların 3D yapı optimizasyonunu yapmak için ACD / Labs Release:ChemSketch'in 11.0 sürümü kullanılmıştır. Sanal tarama için AutoDock Tool 1.5.6 kullanılmıştır. CD44'ün (PDBid: 4MRD) üç boyutlu versiyonunu görselleştirmek için YASARA kullanılmıştır [65]. Pozitif kontrol olan hyaluronik asit SDF formatı PubChem

Veritabanından (CID: 24847767) alınmıştır. Angstrom 6 (A6) yapısı chemsketch ile çizilmiş ve optimize edilmiştir. Kimyasalların bağlanma bölgelerinin karşılaştırılması, AutoDock Vina, AutoDock Tool 1.5.6 [66] ile yapılmıştır. Makromolekül ve ligandları minimize etmek ve format dönüştürmek için PyRx-Pyron Prescription 0.8 Sanal tarama aracı kullanılmıştır. UniProt'tan çıkan ve makromolekülde etiketlenen nükleotit bağlanma alanı, kübik olarak belirlenmiştir. Bu alana göre, 4MRD için, X, Y ve Z kübik geometrisinin her bir boyutu sırasıyla 29, 28 ve 31 Å olarak ayarlanmıştır. Merkezi koordinatlar, X, Y ve Z için sırasıyla 5.5460, -3.8055 ve 2.6173 olarak belirlenmiştir. En iyi moleküler doklama değerini elde etmek için her bir analiz üç kez yapılmıştır.

3.9. Araştırmanın Sınırlılıkları

Araştırmada kullanılacak olan bilgisayar donanımı ve kullanılan veri tabanlarında bulundurulmuş bilgiler ile sınırlıdır. Araştırmanın veri ön işleme bölümünde bilgisayar RAM kısıtlılığından dolayı bazı araçlar kullanılamamıştır.

3.10. Etik Kurul Onayı

2018/24-18 sayılı etik kurul onayı ektedir.

4. BULGULAR

4.1.Sayısal Gene Ekspresyon Verilerinin Analizi

Diferansiyel ekspresyon analizi sonucunda 45 gen aşığı regüle ve 171 gen yukarı regüle olması ile toplamda 216 gen diferansiyel ekspresyon geni (DEG) tespit edilmiştir. Diferansiyel ekspresyon analizi sırasında mutlak *log-fold change* ($|\log FC| < 2.0$) ve p-değeri (p-value < 0.05) sınır değerleri uygulandı. DEG'ler ile yapılan yolak analizinde en çok dikkat çeken glukuronosiltransferaz mekanizmasında oluşan farklılaşmalar olmuştur. Aşırı eksprese olan genlere bağlı oluşan proteinlerin ekspresyonunda meydana gelen ilişkiler cBioPortal ve STRING ile ilişki analizinde ortaya konulmuştur. Yolak analizi ve gene ontoloji analizi sonuçlarında anlamlı çıkan yollar benzer genleri işaret etmektedir. STRING ve cBioPortal ile yapılan protein-protein ilişki analizleri sonucunda da UGT1A ailesi üyeleri potansiyel ilaç hedeflerini oluşturmaktadır.

4.2. Gen Seti Zenginleştirme Analizi

4.2.1. Gen Ontoloji (GO) Analiz Sonuçları

DAVID ile tanımlanan metastatik ve metastatik olmayan hücre hatları arasında farklı ekspresyon seviyesine sahip olduğu gözlenen 216 genin her birinin moleküler fonksiyonları, biyolojik proseslerdeki rolleri, hücresel komponentleri GO analizleri ile gruplara ayrılarak kategorize edilmiştir.

4.2.1.1. *Biyolojik proseslerdeki rollerine göre*

GO analizinde biyolojik proses değerlendirmelerinde ilk sırada yer alan süreç ksenobiyotik glukuronidasyondur. Ksenobiyotik glukuronidasyonu izleyen mekanizmalar sırasıyla glukuronosiltransferaz aktivitesinin negatif düzenlenmesi, hücresel glukuronidasyonun negatif düzenlenmesi, yağ asidi metabolik sürecinin negatif düzenlenmesi, flavonoid glukuronidasyon, hücresel glukuronidasyon olarak devam etmektedir. Biyolojik süreçteki rollerine göre ilk 10 mekanizma ortak genler içermektedir. GO biyolojik proseste anlamlı olarak tespit edilen mekanizmalarda öne çıkan genler *UGT1A7*, *UGT1A10*, *UGT1A6*, *UGT1A9*, *UGT1A8*, *UGT1A3*, *UGT1A5*, *UGT1A4*, *UGT1A1*'dir (Tablo 1).

Tablo 1. DEG'ler için gen ontoloji biyolojik proses sonuçları

Terim	PValue	Genler
GO:0052697~xenobiotic glucuronidation	3.68E-18	<i>UGT1A7, UGT1A10, UGT1A6, UGT1A9, UGT1A8, UGT1A3, UGT1A5, UGT1A4, UGT1A1</i>
GO:1904224~negative regulation of glucuronosyltransferase activity	6.77E-16	<i>UGT1A7, UGT1A10, UGT1A6, UGT1A9, UGT1A8, UGT1A3, UGT1A4, UGT1A1</i>
GO:2001030~negative regulation of cellular glucuronidation	6.77E-16	<i>UGT1A7, UGT1A10, UGT1A6, UGT1A9, UGT1A8, UGT1A3, UGT1A4, UGT1A1</i>
GO:0045922~negative regulation of fatty acid metabolic process	3.03E-15	<i>UGT1A7, UGT1A10, UGT1A6, UGT1A9, UGT1A8, UGT1A3, UGT1A4, UGT1A1</i>
GO:0052696~flavonoid glucuronidation	1.24E-13	<i>UGT1A7, UGT1A10, UGT1A6, UGT1A9, UGT1A8, UGT1A3, UGT1A5, UGT1A4, UGT1A1</i>
GO:0052695~cellular glucuronidation	9.37E-13	<i>UGT1A7, UGT1A10, UGT1A6, UGT1A9, UGT1A8, UGT1A3, UGT1A4, UGT1A1</i>
GO:0009813~flavonoid biosynthetic process	6.37E-10	<i>UGT1A7, UGT1A10, UGT1A6, UGT1A3, UGT1A5, UGT1A4, UGT1A1</i>
GO:0042573~retinoic acid metabolic process	6.80E-09	<i>UGT1A7, UGT1A9, UGT1A8, UGT1A3, CRABP2, UGT1A1</i>
GO:0051552~flavone metabolic process	1.05E-08	<i>UGT1A7, UGT1A10, UGT1A9, UGT1A8, UGT1A1</i>
GO:0008152~metabolic process	1.77E-08	<i>UGT1A7, UGT1A10, UGT1A6, UGT1A9, ACSS1, UGT1A8, UGT1A3, UGT1A5, UGT1A4, ARSJ, UGT1A1</i>
GO:0030198~extracellular matrix organization	7.58E-05	<i>LAMA2, CD44, PDGFA, TNC, NOX1, ITGB6, ITGA1, SPARC</i>
GO:0016266~O-glycan processing	0.003836	<i>MUC3A, ST3GAL2, MUC13, ST6GALNAC2</i>
GO:0042060~wound healing	0.008546	<i>PDGFA, TNC, SPARC, TPM1</i>
GO:0017144~drug metabolic process	0.008753	<i>UGT1A7, UGT1A8, UGT1A1</i>
GO:0007155~cell adhesion	0.010334	<i>LAMA2, SEMA5A, MTSS1, OLR1, CD44, TNC, ITGB6, DSC2</i>
GO:0006601~creatine biosynthetic process	0.010454	<i>GATM, GAMT</i>

GO:0006789~bilirubin conjugation	0.010454	<i>UGT1A4, UGT1A1</i>
GO:0045939~negative regulation of steroid metabolic process	0.010454	<i>UGT1A8, UGT1A1</i>
GO:0009887~organ morphogenesis	0.012489	<i>NRP1, PDGFA, GAMT, LFNG</i>
GO:0032675~regulation of interleukin-6 production	0.01564	<i>AFAP1L2, HLA-B</i>
GO:0051454~intracellular pH elevation	0.0208	<i>NOX1, CFTR</i>
GO:0010595~positive regulation of endothelial cell migration	0.024207	<i>NRP1, SPARC, PROX1</i>
GO:0030035~microspike assembly	0.025933	<i>MTSS1, FSCN1</i>
GO:0031346~positive regulation of cell projection organization	0.025933	<i>LCN2, PROM2</i>
GO:0009804~coumarin metabolic process	0.031039	<i>UGT1A7, UGT1A8</i>
GO:0050680~negative regulation of epithelial cell proliferation	0.03483	<i>CDKN1C, MAGED1, MTSS1</i>
GO:0042167~heme catabolic process	0.036119	<i>UGT1A4, UGT1A1</i>
GO:0048842~positive regulation of axon extension involved in axon guidance	0.036119	<i>SEMA5A, NRP1</i>
GO:0009611~response to wounding	0.043149	<i>NRP1, PDGFA, TNC</i>
GO:0006954~inflammatory response	0.048906	<i>CCRL2, TNFRSF11A, OLR1, NOX1, ITGB6, AFAP1L2</i>

4.2.1.1.1. Ksenobiyotik glukuronidasyon(GO:0052697)

Anlamli ekspresyon değişimi gözlenen transkriptlerin ksenobiyotik glukuronidasyon sürecinde yer alan dokuz geni göstermesi sonucu bu süreç anlamli saptanmıştır. Ksenobiyotik glukuronidasyon bir ksenobiyotik maddenin, glukuronik asidin konjügasyonu ile modifikasyonudur. Elde edilen glukuronosidler, ksenobiyotik öncülünden çok daha fazla suda çözünür haldedir ve verimli atılım sağlar[67].

4.2.1.1.2. Glukuronosiltransferaz Aktivitesinin Negatif Düzenlenmesi (GO:1904224)

Glukuronosiltransferaz aktivitesinin sıklığını, oranını veya derecesini durduran, önleyen veya azaltan her bir işlemdir[68]. Anlamlı ekspresyon değişimi gösteren sekiz gen göstermesi sonucunda glukuronosiltransferaz aktivitesinin negatif düzenlenmesi süreci anlamlı olarak saptanmıştır.

4.2.1.1.3. Hücresel Glukuronidasyonun Negatif Düzenlenmesi (GO:2001030)

Hücresel glukuronidasyonun negatif düzenlenmesi, hücresel glukuronidasyonun sıklığını, oranını veya derecesini durduran, önleyen veya azaltan her bir işlemdir[69]. Anlamlı ekspresyon değişimi gözlemlenen bu süreçte sekiz gen saptanmıştır. Anlamlı olarak saptanan sekiz gen UDP-glukuronosiltransferazlar adı verilen enzimlerin hazırlanmasına yönelik talimatlar veren bir gen ailesine aittir.

4.2.1.1.4. Yağ Asidi Metabolik Sürecinin Negatif Düzenlenmesi (GO:0045922)

Yağ asitlerini içeren kimyasal reaksiyonların ve yolların sıklığını, oranını veya derecesini durduran, önleyen veya azaltan her bir işlemdir[70]. Ekspresyon değişimi anlamlı olarak tespit edilen bu süreçte sekiz gen saptanmıştır. Anlamlı olarak saptanan sekiz gen UDP-glukuronosiltransferazlar adı verilen enzimlerin hazırlanmasına yönelik talimatlar veren bir gen ailesine aittir.

4.2.1.1.5. Flavonoid Glukuronidasyon (GO:0052696)

Flavonoid glukuronidasyon, bir flavonoidin, glukuronik asidin konjugasyonu ile modifikasyonudur. Elde edilen flavonoid glukuronositler öncül maddeden çok daha fazla suda çözünürdür. Bu süreç içerisinde anlamlı olarak tespit edilen dokuz gen UDP-glukuronosiltransferazlar adı verilen enzimlerin hazırlanmasına yönelik talimatlar veren bir gen ailesine aittir.

4.2.1.1.6. Hücresel Glukuronidasyon (GO:0052695)

Bir organik kimyasalın, glukuronik asidin konjugasyonu ile değiştirilmesi Glukuronidasyondan kaynaklanan maddeler, glukuronositler (veya glukuronitler) olarak bilinir ve genellikle glukuronik asit içermeyen öncü maddeden çok daha fazla suda çözünür[71].

4.2.1.1.7. Flavonoid Biyosentetik Proses (GO:0009813)

Bir flavan iskeleti içeren bir fenolik türev grubu olan flavonoidlerin oluşumuna yol açan kimyasal reaksiyonlar ve yollardır. Anlamlı ekspresyon değişimi gözlemlenen bu süreçte yedi gen saptanmıştır. Anlamlı olarak saptanan yedi gen UDP-glukuronosiltransferazlar adı verilen enzimlerin hazırlanmasına yönelik talimatlar veren bir gen ailesine aittir.

4.2.1.1.8. Retinoik Asit Metabolik Süreci (GO:0042573)

A vitamini oluşturan üç bileşenden biri olan retinoik asidi içeren kimyasal reaksiyonlar ve yollardır. Anlamlı ekspresyon değişimi gözlenen transkriptlerin retinoik asit metabolik sürecinde yer alan altı geni göstermesi sonucu bu süreç anlamlı saptanmıştır. Anlamlı olarak saptanan altı gen arasında yer alan genlerden biri hücresel retinoik asit bağlayıcı protein 2 (CRABP2)'dir ve diğerleri UDP-glukuronosiltransferazlar adı verilen enzimlerin hazırlanmasına yönelik talimatlar veren bir gen ailesine aittir.

4.2.1.1.9. Metabolik Proses (GO:0008152)

Canlı organizmaların kimyasal maddeleri dönüştürdüğü anabolizma ve katabolizma dahil olmak üzere kimyasal reaksiyonlar ve yollar bütünüdür. Metabolik işlemler tipik olarak küçük molekülleri dönüştürür, fakat aynı zamanda DNA onarımı ve replikasyonu ve protein sentezi ve yıkımı gibi makromoleküler işlemleri içeren bir süreçtir[72]. Metabolik proseste anlamlı olarak elde edilen genler arasında UDP-glukuronosiltransferaz ailesi dışında arilsülfataz ailesi üyesi J (ARSJ) ve asil-CoA sentetaz kısa zincirli aile üyesi 1 (ACSS1) yer almaktadır.

4.2.1.1.10. Ekstraselüler Matriks Organizasyonu (GO:0030198)

Hücresel seviyede, ekstraselüler matriksin birleştirilmesi, bileşen parçalarının düzenlenmesi veya sökülmesiyle sonuçlanan bir işlemdir[73]. Ekstraselüler matriks sürecinde anlamlı olarak saptanan genler şunlardır; CD44 molekülü (Hint kan grubu) (CD44), NADPH

oksidaz 1 (NOX1), integrin alt birim alfa 1 (ITGA1), integrin alt birimi beta 6 (ITGB6), laminin alt birimi alfa 2 (LAMA2), trombosit kaynaklı büyüme faktörü alt birimi A (PDGFA), asidik protein salgılanan ve sistein bakımından zengin (SPARC) ve tenascin C (TNC)'dir.

4.2.1.2. Hücresel Komponentlerine Göre

Hücresel olarak bileşenlerine göre değerlendirildiğinde en dikkat çeken mekanizma hücre dışı eksozomdur. Hücre dışı eksozomu, mikrovillus, hücre yüzeyi, zarın ayrılmaz bileşeni, endoplazmik retikulum, fokal adezyon, mikrovillus membranı, filamentli aktin takip etmektedir (Tablo 2).

Tablo 2. DEG'ler için gen ontoloji hücresel komponent sonuçları

Terim	P-değeri	Genler
GO:0070062~extracellular exosome	1.53E-06	<i>S100A4, CADM1, SLC44A4, CRABP2, IQGAP2, SEMA5A, UGT1A6, UGT1A9, CD44, SLC2A3, TMEM52B, ITGB6, GPX3, TGM2, MSN, MUC13, DPP4, S100P, OLR1, GATM, FSCN1, ITGA1, CFTR, HLA-B, PDZK1IP1, LAMA2, LCN2, PROM2, CLIC3, CLDN2, DSC2, QPRT, GAMT, KRT71</i>
GO:0005902~microvillus	2.04E-04	<i>PROM2, PDGFA, FSCN1, IQGAP2, MSN</i>
GO:0009986~cell surface	4.40E-04	<i>PROM2, NRP1, CD44, PDGFA, TRPV2, ITGA1, IQGAP2, CFTR, HLA-B, SPARC, DPP4</i>
GO:0016021~integral component of membrane	0.001686	<i>HSD3B1, NRP1, CADM1, SLC44A4, SLC2A14, TRPV2, ARSJ, IL33, TPM1, TMEM61, NAALADL2, SEMA5A, CCRL2, UGT1A7, B3GNT9, UGT1A6, UGT1A9, UGT1A8, UGT1A3, CD44, SLC2A3, UGT1A5, TMEM52B, UGT1A4, MUC13, DPP4, RNF144B, OLR1, NOX1, CFTR, HLA-B, ATP11C, UGT1A1, ST6GALNAC2, PDZK1IP1, UGT1A10, MUC3A, DHRS3, PROM2, CLDN2, DSC2</i>
GO:0005783~endoplasmic reticulum	0.003251	<i>UGT1A7, UGT1A10, UGT1A6, UGT1A9, UGT1A8, UGT1A3, UGT1A4, CRABP2, TGM2, ATP11C, HLA-B, UGT1A1</i>
GO:0005925~focal adhesion	0.003867	<i>NRP1, CD44, TNC, ITGB6, TGM2, ITGA1, MSN, DPP4</i>
GO:0031528~microvillus membrane	0.004163	<i>PROM2, S100P, MSN</i>

GO:0005789~endoplasmic reticulum membrane	0.004404	UGT1A7, UGT1A10, UGT1A6, PLA2G4A, UGT1A9, DHRS3, HSD3B1, UGT1A8, UGT1A3, UGT1A4, ATP11C, UGT1A1
GO:0031941~filamentous actin	0.010881	FSCN1, IQGAP2, TPM1
GO:0044393~microspike	0.015232	PROM2, FSCN1
GO:0016324~apical plasma membrane	0.016674	MUC3A, PROM2, CFTR, MSN, MUC13, DPP4
GO:0030426~growth cone	0.021548	NRP1, RASGRF1, FSCN1, DBN1
GO:0015629~actin cytoskeleton	0.025462	MTSS1, FSCN1, IQGAP2, DENND2A, DBN1
GO:0071438~invadopodium membrane	0.030235	NOX1, DPP4
GO:0030173~integral component of Golgi membrane	0.035402	ST3GAL2, LFNG, ST6GALNAC2
GO:0005615~extracellular space	0.04094	S100A4, LCN2, CTHRC1, MUC3A, NRP1, PDGFA, TNC, GPX3, CST1, IL33, MSN, SPARC, MUC13

4.2.1.2.1. Hücre Dışı Eksozom (GO:0070062)

Multivesiküler bir cismin sınırlayıcı endozomal membranının plazma membranı ile füzyonu ile hücre dışı bölgeye salınan bir veziküldür. Hücre dışı eksozomlar, ayrıca basitçe eksozom olarak da adlandırılır, yaklaşık 40-100 nm'lik bir çapa sahiptir. Anlamlı ekspresyon değişimi gözlemlenen 34 gen saptanmıştır.

4.2.1.2.2. Mikrovillus (GO:0005902)

Aktin filamentlerinin bir demetini içeren bir hayvan hücresinin yüzeyinde ince silindirik zar kaplı çıkıntılardır. Bağırsak hücrelerinin emici yüzeyinde özellikle çok sayıda bulunur.

4.2.1.2.3. Hücre Yüzeyi (GO:0009986)

Hücre duvarının ve / veya plazma zarının dış kısmıdır. Hücre yüzeyi komponentinde anlı olarak yer alan genler şunlardır; CD44, GTPase aktive edici protein 2 (IQGAP2) içeren IQ motifi, kistik fibroz transmembran iletkenlik regülatörü (CFTR), dipeptidil peptidaz 4 (DPP4),

ITGA1, ana histouyumluluk kompleksi, sınıf I, B (HLA-B), nöropilin 1 (NRP1), trombosit kaynaklı büyüme faktörü alt birimi A (PDGFA), prominin 2 (PROM2), salgılanan protein asidik ve sistein bakımından zengin (SPARC), geçici reseptör potansiyel katyon kanalı alt ailesi V üyesi 2 (TRPV2).

4.2.1.3. Moleküler Fonksiyonlarına Göre

Moleküler fonksiyonlarına göre değerlendirildiğinde istatistiksel olarak en önemli mekanizma retinoik asit bağlamadır. Retinoik asit bağlamayı glukuronosiltransferaz aktivitesi, transferaz aktivitesi - heksosil gruplarının aktarılmasında, protein homodimerizasyon aktivitesi, enzim bağlanması, enzim inhibitör aktivitesi, protein heterodimerizasyon aktivitesi, aktin bağlama, kollajen bağlanması takip etmektedir (Tablo 3).

Tablo 3. DEG'ler için gen ontoloji moleküler fonksiyon sonuçları

Terim	PValue	Genler
GO:0001972~retinoic acid binding	1.81E-13	UGT1A7, UGT1A10, UGT1A6, UGT1A9, UGT1A8, UGT1A3, UGT1A4, CRABP2, UGT1A1
GO:0015020~glucuronosyltransferase activity	1.55E-12	UGT1A7, UGT1A10, UGT1A6, UGT1A9, UGT1A8, UGT1A3, UGT1A5, UGT1A4, UGT1A1
GO:0016758~transferase activity, transferring hexosyl groups	9.07E-09	UGT1A7, UGT1A6, UGT1A9, UGT1A8, UGT1A3, UGT1A4, UGT1A1
GO:0042803~protein homodimerization activity	9.98E-05	CADM1, PDGFA, UGT1A1, UGT1A7, LCN2, UGT1A6, UGT1A10, UGT1A9, UGT1A8, UGT1A3, UGT1A4, QPRT, DPP4, MUC13
GO:0019899~enzyme binding	3.44E-04	UGT1A7, UGT1A10, UGT1A6, UGT1A9, UGT1A8, UGT1A3, UGT1A4, CFTR, UGT1A1
GO:0004857~enzyme inhibitor activity	5.02E-04	UGT1A7, UGT1A9, UGT1A8, UGT1A1
GO:0046982~protein heterodimerization activity	7.03E-04	UGT1A7, UGT1A10, UGT1A6, UGT1A9, UGT1A8, UGT1A3, PDGFA, UGT1A4, UGT1A1, AHR
GO:0003779~actin binding	0.003315	S100A4, FSCN1, IQGAP2, MSN, KLHL4, TPM1, DBN1
GO:0005518~collagen binding	0.00378	CD44, PDGFA, ITGA1, SPARC

GO:0005102~receptor binding	0.01033	LAMA2, MTSS1, CADM1, ITGA1, MSN, HLA-B, DPP4
GO:0045545~syndecan binding	0.030877	SEMA5A, TNC

4.2.2. KEGG Yolak Analizi

Yolak analizinin sonuçlarına göre istatistiksel olarak en önemli mekanizma *ascorbat* ve *aldarate* metabolizmasıdır. *Ascorbat* ve *aldarate* metabolizmasını sırasıyla takip eden yollar şu şekildedir; pentoz ve glukuronat dönüşümleri, steroid hormonu biyosentezi, porfirin ve klorofil metabolizması, retinol metabolizması, ilaç metabolizması - diğer enzimler, ilaç metabolizması - sitokrom P450, ksenobiyotiklerin sitokrom P450 ile metabolizması, kimyasal karsinogenez, metabolik yollar, ECM-reseptör etkileşimi ve *focal adhesion* (Tablo 4).

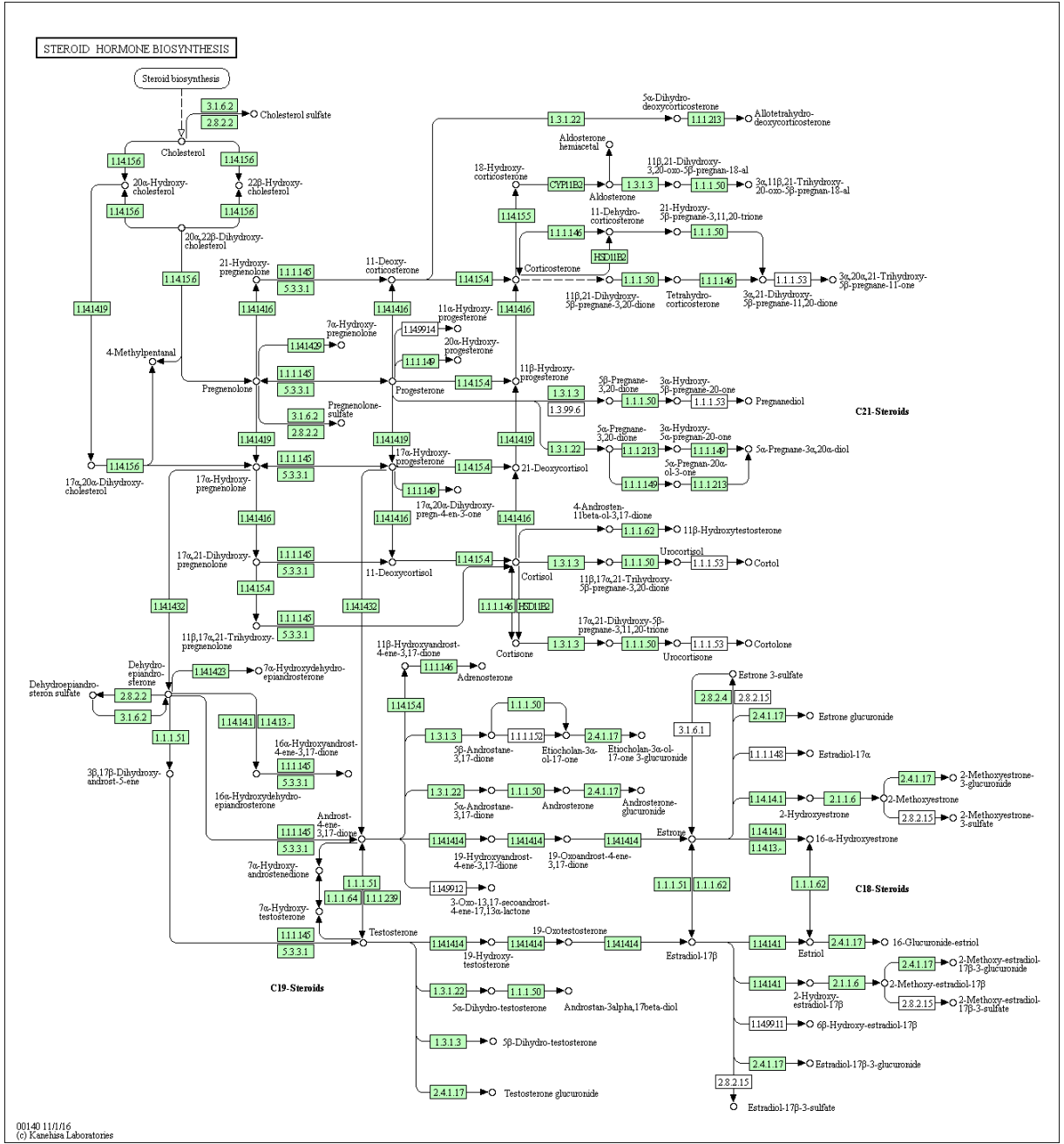
Tablo 4. KEGG yolak analizi sonuçları

Terim	p-değeri	Genler
hsa00053:Ascorbate and aldarate metabolism	1,21E-11	UGT1A7, UGT1A10, UGT1A6, UGT1A9, UGT1A8, UGT1A3, UGT1A5, UGT1A4, UGT1A1
hsa00040:Pentose and glucuronate interconversions	7,31E-11	UGT1A7, UGT1A10, UGT1A6, UGT1A9, UGT1A8, UGT1A3, UGT1A5, UGT1A4, UGT1A1
hsa00140:Steroid hormone biosynthesis	3,14E-10	UGT1A7, UGT1A10, UGT1A6, UGT1A9, HSD3B1, UGT1A8, UGT1A3, UGT1A5, UGT1A4, UGT1A1
hsa00860:Porphyrin and chlorophyll metabolism	5,91E-10	UGT1A7, UGT1A10, UGT1A6, UGT1A9, UGT1A8, UGT1A3, UGT1A5, UGT1A4, UGT1A1
hsa00830:Retinol metabolism	7,85E-10	UGT1A7, UGT1A10, UGT1A6, UGT1A9, DHRS3, UGT1A8, UGT1A3, UGT1A5, UGT1A4, UGT1A1
hsa00983:Drug metabolism - other enzymes	1,28E-09	UGT1A7, UGT1A10, UGT1A6, UGT1A9, UGT1A8, UGT1A3, UGT1A5, UGT1A4, UGT1A1
hsa00982:Drug metabolism - cytochrome P450	3,19E-08	UGT1A7, UGT1A10, UGT1A6, UGT1A9, UGT1A8, UGT1A3, UGT1A5, UGT1A4, UGT1A1

hsa00980:Metabolism of xenobiotics by cytochrome P450	6,28E-08	<i>UGT1A7, UGT1A10, UGT1A6, UGT1A9, UGT1A8, UGT1A3, UGT1A5, UGT1A4, UGT1A1</i>
hsa05204:Chemical carcinogenesis	1,17E-07	<i>UGT1A7, UGT1A10, UGT1A6, UGT1A9, UGT1A8, UGT1A3, UGT1A5, UGT1A4, UGT1A1</i>
hsa01100:Metabolic pathways	9,34E-04	<i>CYP24A1, HSD3B1, GATM, UGT1A1, UGT1A7, UGT1A10, UGT1A6, UGT1A9, DHRS3, PLA2G4A, ACSS1, UGT1A8, PLCB4, ST3GAL2, UGT1A3, UGT1A5, UGT1A4, QPRT, GAMT, PAPSS2</i>
hsa04512:ECM-receptor interaction	0,004071	<i>LAMA2, CD44, TNC, ITGB6, ITGA1</i>
hsa04510:Focal adhesion	0,019055	<i>LAMA2, RASGRF1, PDGFA, TNC, ITGB6, ITGA1</i>

4.2.2.1. Pentoz Ve Glukuronat Dönüşümleri

KEGG diyagramında gösterildiği gibi, monosakarit pentoz ve glukuronatın, glukuronik asidin tuzları veya esterlerinin dönüşümlerinde yer alan seri veya metabolik reaksiyonlardır (Şekil 13).



Şekil 14. Anlamlı ekspresyon düzeyi için streod homon sentez yoluğı

4.2.2.3. Porfirin ve Klorofil Metabolizması

Porfirin sentezinde, kullanımında ve / veya bozunmasında rol oynayan bu reaksiyonlar porfirin yapısını içeren bir bileşik grubundan herhangi biri, çeşitli yan zincirlerin bağlanabileceğı, sıklık bir konfigürasyonda, *methine* köprüleri ile bağı dört pirol halkaları (ve

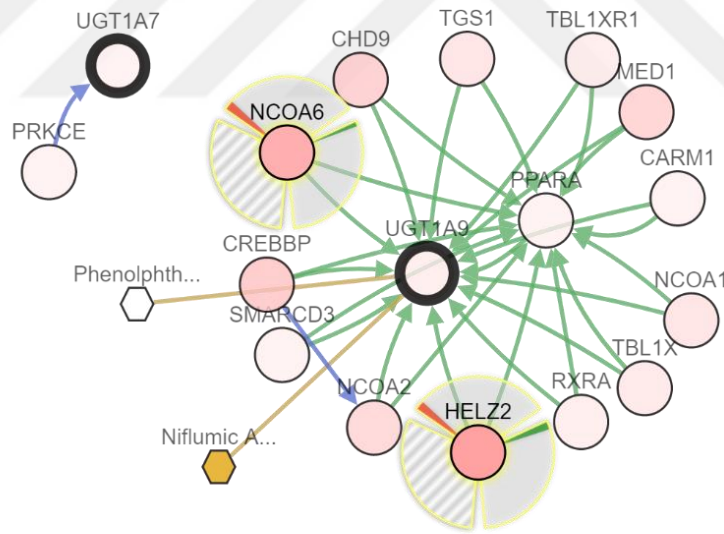
47

4.2.3. Protein-Protein Etkileşim Analizi

Yolak analizi sonucunda ortaya konulan mekanizmalara bağlı olarak yapılan protein-protein etkileşimleri cBioPortal üzerinden analizi yapılmıştır. Bu analiz sonucunda belirli proteinlere bağlı olarak ilaç hedefleri gösterilmiştir. Gen seti zenginleştirme analizinin devamında KEEG yolak analizi sonuçları ağ biyolojisi ile değerlendirildi.

4.2.3.1. Askorbat ve Alderat Metabolizması

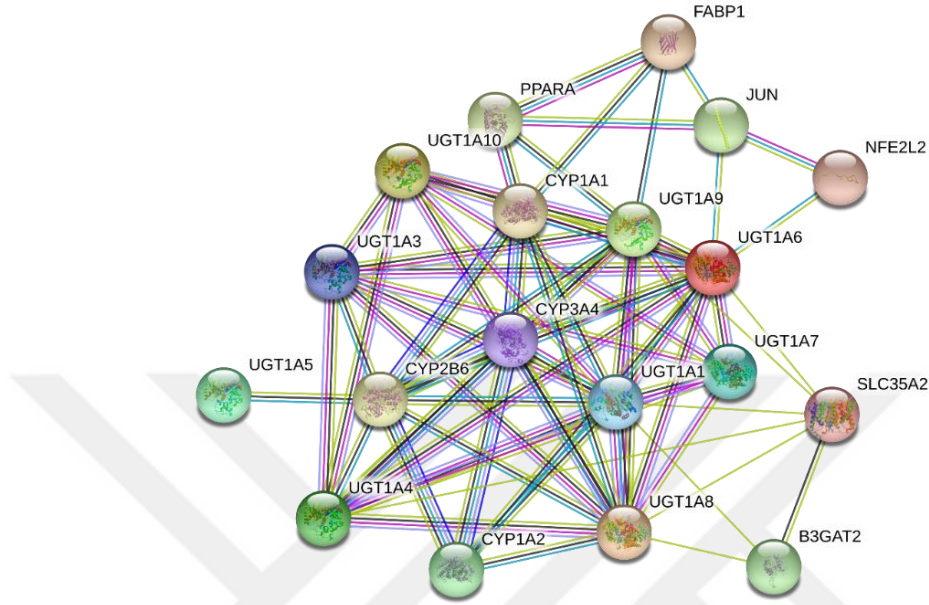
Askorbat ve alderat metabolizmasında protein etkileşimlerine bakıldığında UGT1A9 geninin merkezde rol aldığı görülmektedir. UGT1A9 geninin ekspresyonu üzerinde rol oynayan genlerin PPARA geninin de ekspresyonunu benzer şekilde etkilemektedirler. HELZ2 geninde %13,6'lık bir alterasyon gözlenmektedir. UGT1A9 proteinine bağlanan Niflumic Acid isimli FDA onaylı ilaç romatoid artrit tedavisinde kullanılan bir analjezik ve anti-enflamatuar bir ajandır. Fenolftalein FDA onayı almayan bir ilaç hedefidir (Şekil 16).



Şekil 16. Ascorbate ve aldarate metabolizması için cBioPortal üzerinde ağ haritası gösterimi

STRING üzerinde gerekli minimum etkileşim puanı 0.90 ve gösterilecek maksimum etkileşim sayısı 10 olarak yapılan protein-protein analizi sonucunda 0.975 puanı ile CYP3A4, tahminlenen en yakın fonksiyonel partnerdir (Şekil 17). Bu doğrultuda CYP3A4 askorbat ve

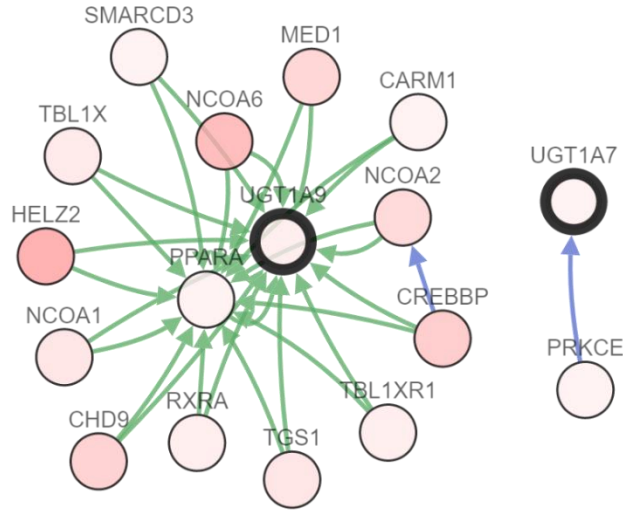
alderat metabolizmasının çıktıları arasında yer alan bir protein olmamasına rağmen yüksek oranda ilişkili çıkmıştır.



Şekil 17.Ascorbate ve Alderate Metabolizması İçin String Üzerinde PPI Gösterimi

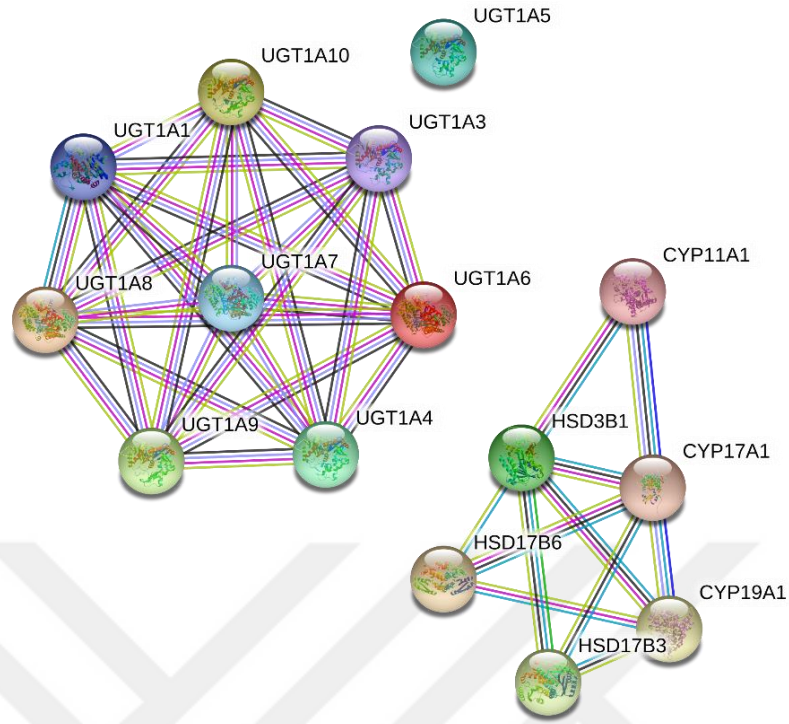
4.2.3.2. Steroid Hormon Biyosentez Mekanizması

Steroid hormon biyosentezi mekanizmasında da askorbat ve alderat mekanizmasında karşımıza çıkan sonuçlara benzer çıktılar elde edilmiştir. cBioPortal üzerinde UGT1A9 geni ağ haritasının merkezinde yer alırken UGT1A9 geninin ekspresyonunu etkileyen 14 tane gen bulunmaktadır (Şekil 18).



Şekil 18. Steroid hormon biyosentez mekanizması için cBioPortal üzerinde ağ haritası gösterimi

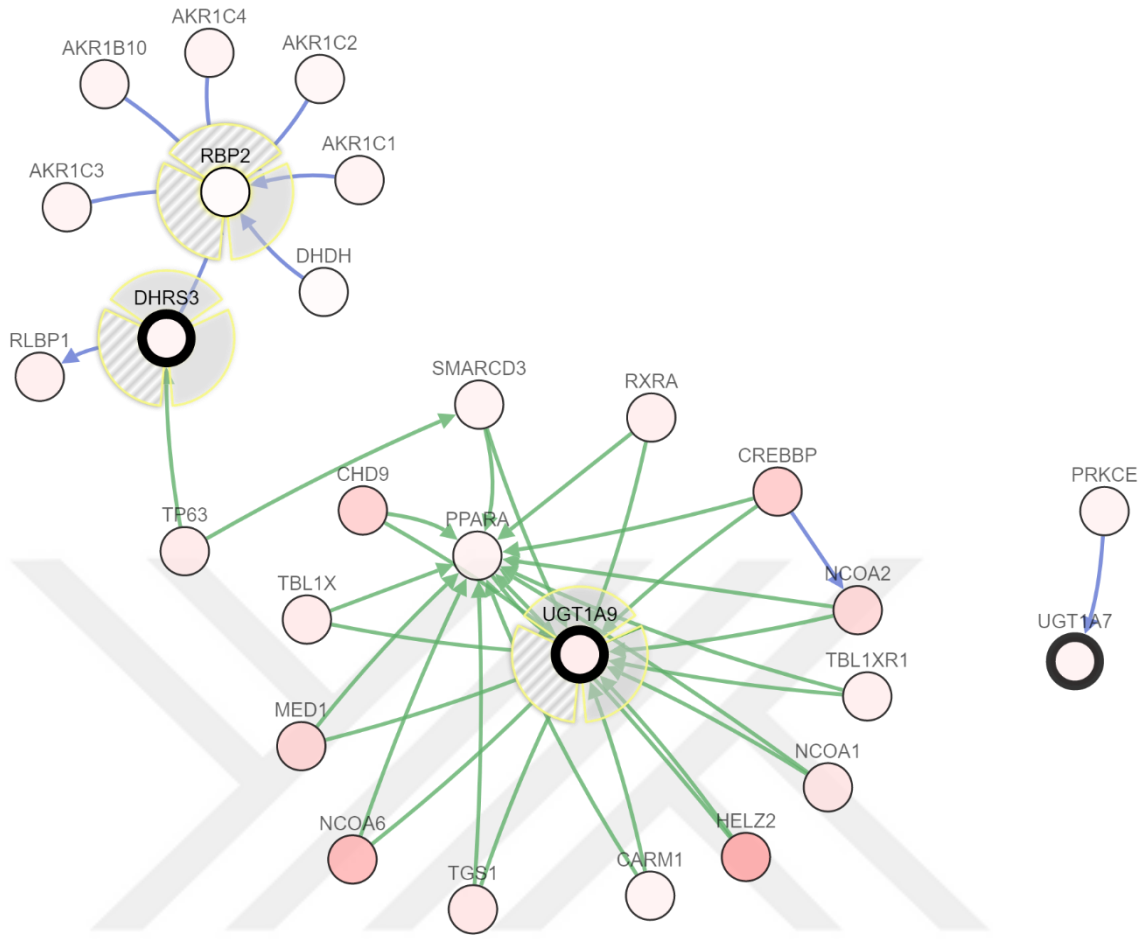
Steroid biyosentez mekanizması STRING üzerinde değerlendirildiğinde UGT1A5 proteini etkileşimlerin dışında kalmaktadır. CYP11A1 ve CYP11A7 proteinleri 0.993 puanı ile bu mekanizmanın öngörülen en yakın fonksiyonel partnerleridir (Şekil 19). CYP11A1 ve CYP11A7 proteinleri UGT1A ailesinden bağımsız olarak HSD3B1 proteini ile etkileşimde olması steroid biyosentez mekanizması için iki alt PPI oluşmasını sağlamıştır.



Şekil 19. Steroid Hormon Biyosentez Mekanizması İçin STRING Üzerinde PPI Gösterimi

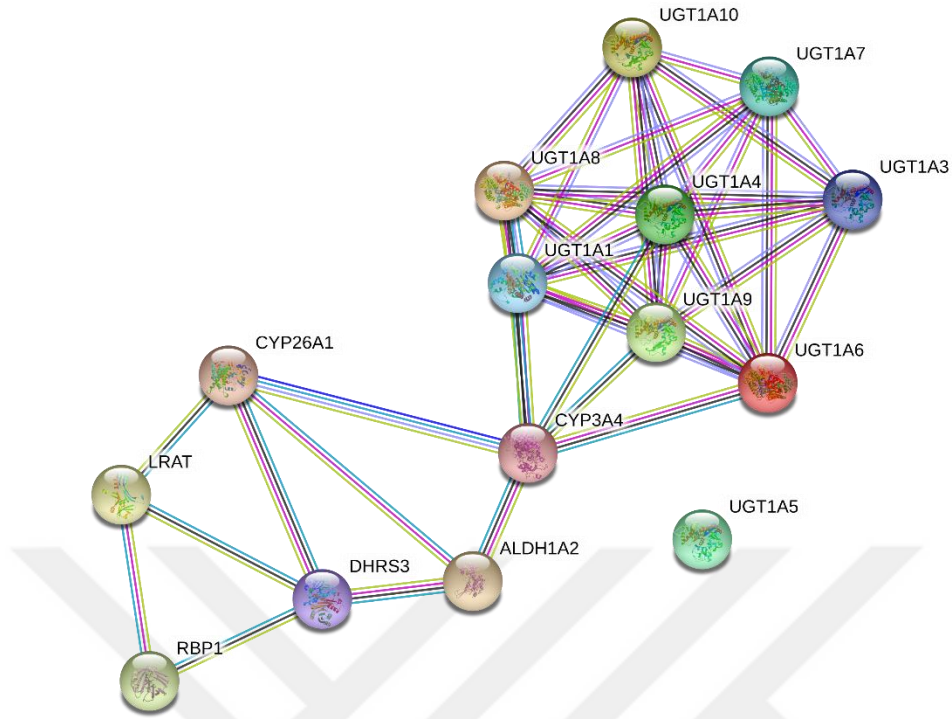
4.2.3.3. Retinol Metabolizması

Retinol metabolizmasında aktif rol oynayan genler arasında UGT1A7, UGT1A10, UGT1A6, UGT1A9, DHRS3, UGT1A8, UGT1A3, UGT1A5, UGT1A4, UGT1A1 genlerinin aşırı eksprese olduğu görülmüştür. Burada DHRS3 geni ile bir alt grup oluşmuştur (Şekil 20).



Şekil 20. Retinol metabolizması için cBioPortal üzerinde ağ haritası gösterimi

STRING ile yapılan protein-protein etkileşim analizinde yolak analizi sonucunda elde edilen proteinler dışında CYP3A4 proteinin UGT1A ailesi ile ilişkilendirilmesinde kilit rol oynadığı görülmektedir ve askorbat ve alderat metabolizmasında olduğu gibi öngörülen fonksiyonel ortak puanı 0.975 ile desteklenmektedir (Şekil 21). Retinol metabolizmasında UGT1A ailesi dışında anlamlı olarak saptanan DHRS3 proteinin bulunması CYP3A4 proteinini bu mekanizma içerisinde önemli boyutta ilişkili duruma getirmiştir. Burada gerekli minimum etkileşim puanı 0.90 ve gösterilecek maksimum etkileşim sayısı 5 olarak değerlendirme yapılmıştır.

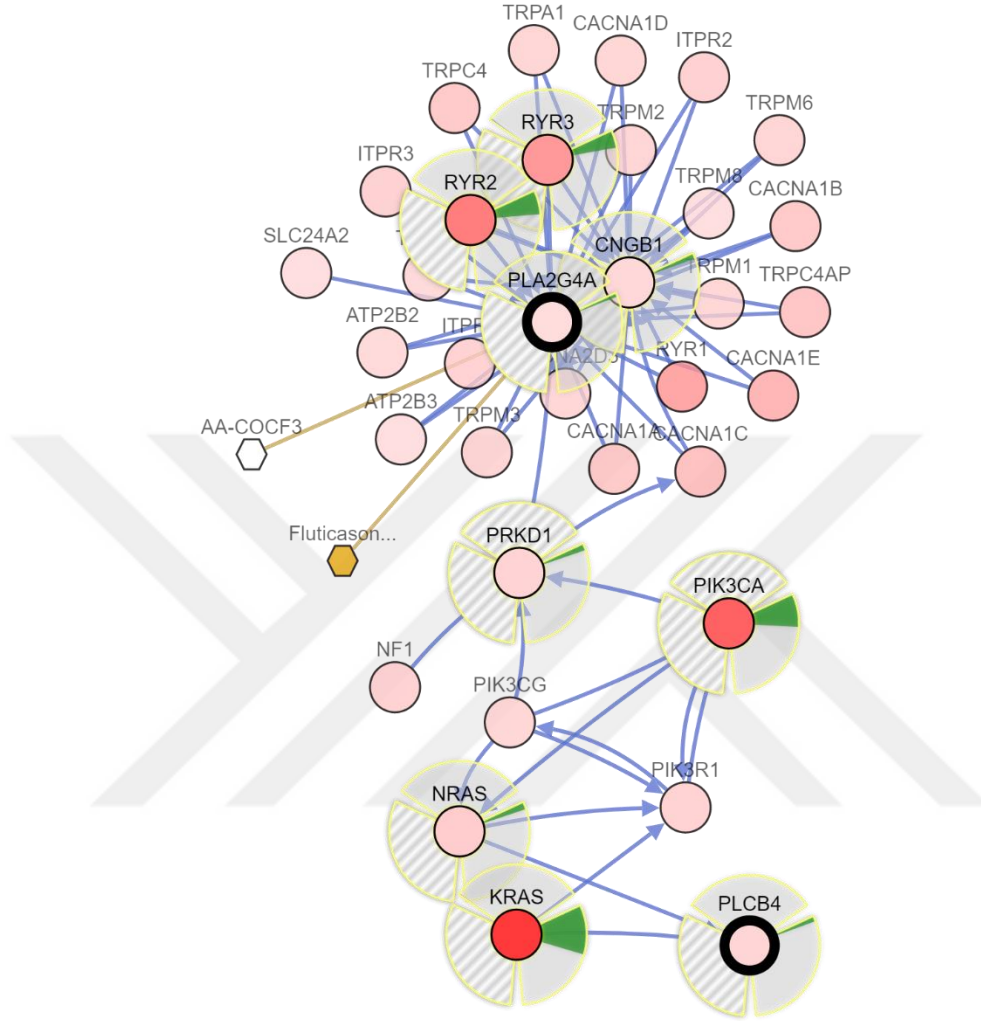


Şekil 21. Retinol metabolizması için STRING üzerinde PPI gösterimi

4.2.3.4. Metabolik Yolak

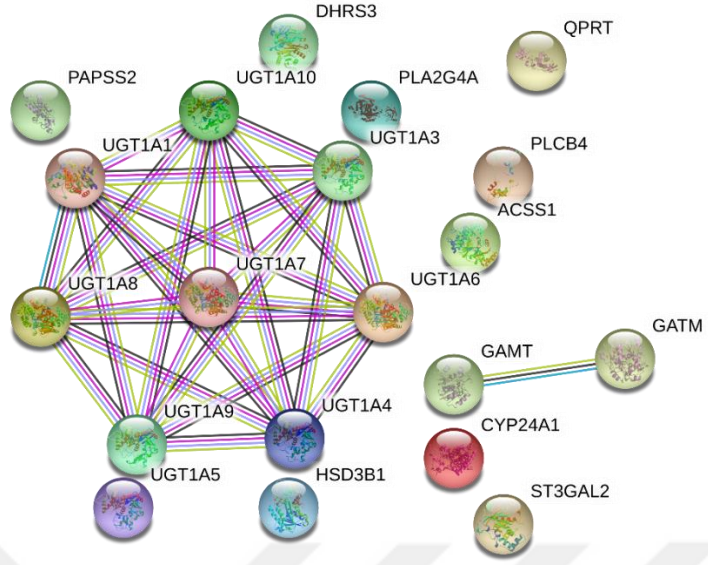
Metabolik yolak üzerinde aşırı ekspresyona uğrayan genler 3'-fosfoadenosin 5'-fosfosülfat sentaz 2 (PAPSS2), ST3 beta-galaktozid alfa-2,3-sialiltransferaz 2 (ST3GAL2), asil-CoA sentetaz kısa zincirli aile üyesi 1 (ACSS1), sitokrom P450 ailesi 24 alt ailesi A üyesi 1 (CYP24A1), dehidrojenaz / redüktaz 3 (DHRS3), glisin amidinotransferaz (GATM), guanidinoasetat N-metiltransferaz (GAMT), hidroksi-delta-5-steroid dehidrojenaz, 3 beta ve steroid delta-izomeraz 1 (HSD3B1), fosfolipaz A2 grubu IVA (PLA2G4A), fosfolipaz C beta 4 (PLCB4), kuinolinat fosforibosiltransferaz (QPRT) ve UDP glukuronosiltransferaz ailesinden UGT1A1, UGT1A10, UGT1A3, UGT1A4, UGT1A5, UGT1A6, UGT1A7, UGT1A8, UGT1A9 şeklindedir. cBioPortal üzerinde yapılan ağ analizi sonucunda PLA2G4A kilit rol oynadığı görülmektedir (Şekil 22). PLA2G4A ile ilişkilendirilen 2 adet ilaç hedefi bulunmaktadır. Bunlardan ilki henüz FDA onayı almamış olan AA-COCF3'dür. AA-COCF3 hedeflediği toplamda 5 gen bulunmaktadır ve bunlardan biri PLA2G4A'dır. İkincisi ise 2 klinik denemesi bulunan FDA onaylı flutikazon propiyonat'tır. Tüm bunların yanı sıra dikkat çeken diğer bir protein PLCB4'dür. NRAS ve KRAS gibi kolorektal

kanserinde kilit rol oynayan genler tarafından değişimi kontrol edilmektedir. *PIK3CA* üzerinde de % 27,7'lik bir değişim görülmektedir.

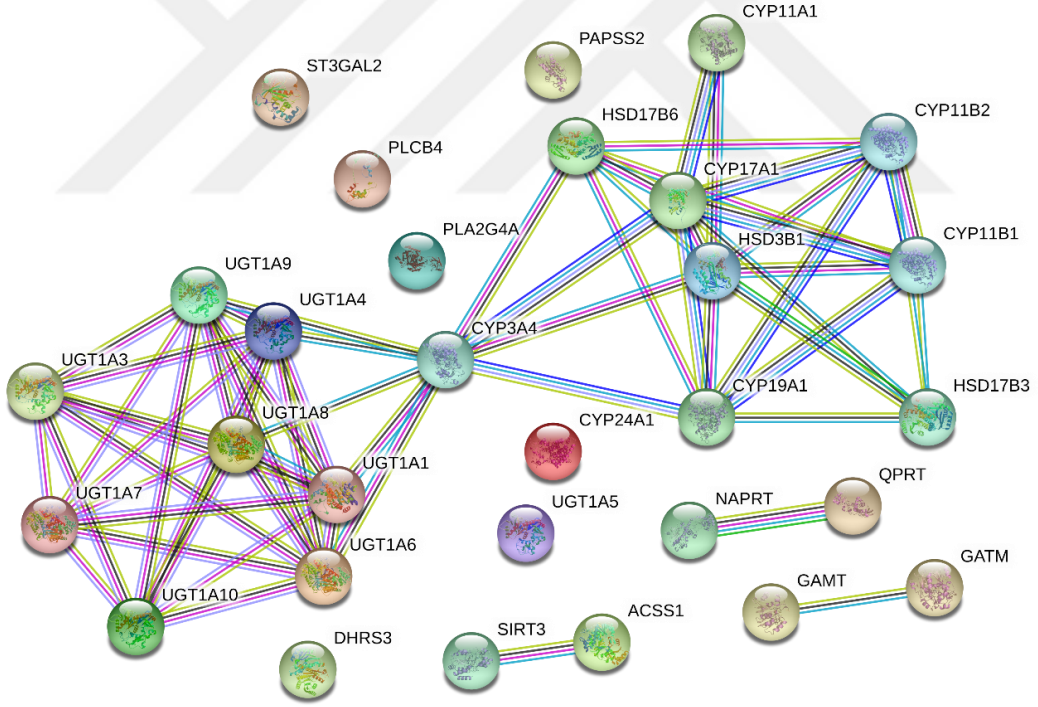


Şekil 22. Metabolik yolak için cBioPortal üzerinde ağ haritası gösterimi

STRING üzerinde metabolik yolak için sadece anlamlı olarak saptanan proteinler ile minimum etkileşim puanı 0.90 olacak şekilde analiz yapıldığında Şekil 23'deki gibi görünmektedir. Fakat gösterilecek maksimum etkileşim sayısı 10'a çıkarıldığında Şekil 24'teki PPI ortaya çıkmaktadır. Gösterilecek maksimum etkileşim sayısı sadece anlamlı olarak saptanan proteinler olduğunda CYP3A4 etkileşim haritasında görünmüyor iken maksimum etkileşim sayısı 10'a çıkarıldığında diğer mekanizmalarda olduğu gibi dikkat çekmektedir.



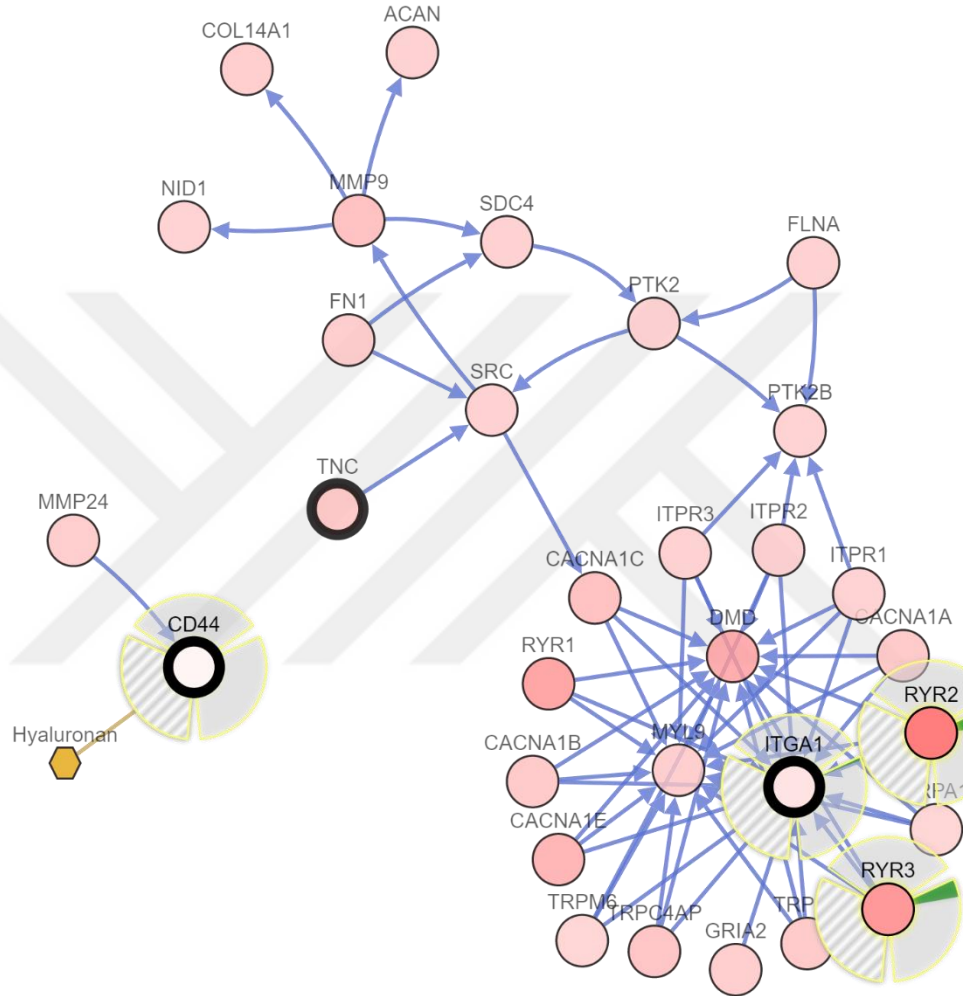
Şekil 23. Metabolik yolak için STRING üzerinde PPI gösterimi



Şekil 24. Metabolik yolak için STRING üzerinde PPI gösterimi 2

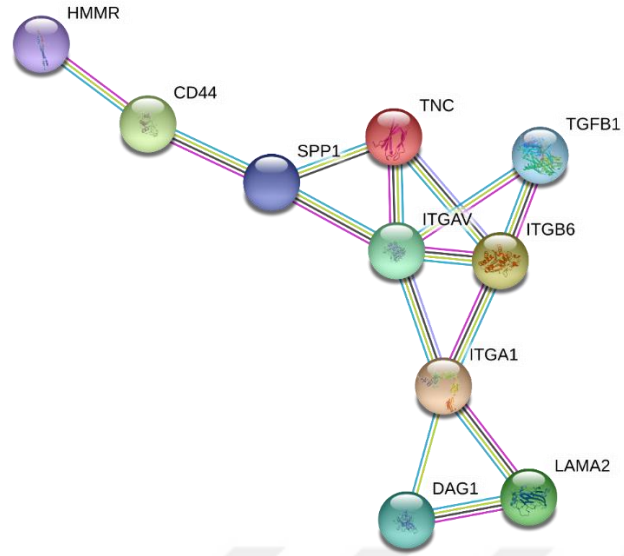
4.2.3.5. *ECM-reseptör Etkileşimi*

ECM-reseptör etkileşimi için yapılan etkileşim analizinde metabolik yolda karşımıza çıkan RYR2 ve RYR3'te alterasyon yüksek gözlemlenmiştir. CD44 üzerinde kullanılan FDA onaylı hyaluronan ilaç hedefi bulunmaktadır (Şekil 25).



Şekil 25. ECM-reseptör etkileşimi için cBioPortal üzerinde ağ haritası gösterimi

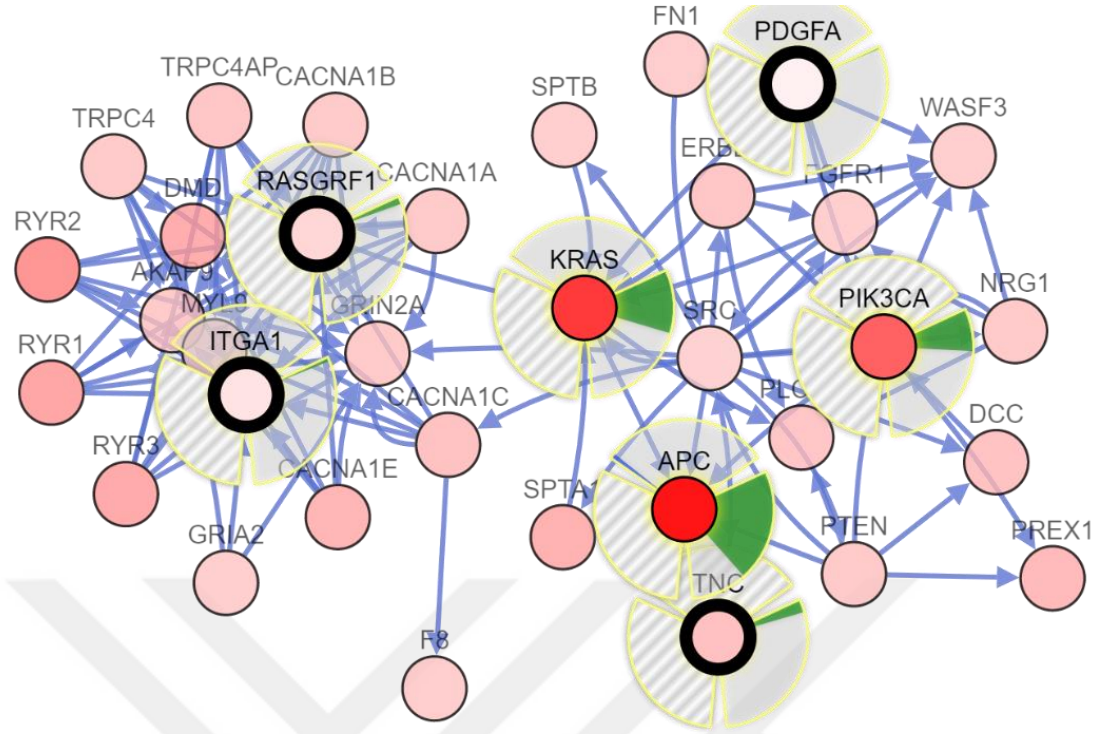
ECM-reseptör etkileşimi üzerinde LAMA2, CD44, TNC, ITGB6, ITGA1 proteinleri ile başlanan PPI analizi sonucunda kolorektal kanser yolakları üzerinde büyük bir öneme sahip olan TGFB1 ile ITGAV ve ITGB6 etkileşimi görülmektedir (Şekil 26).



Şekil 26. ECM-reseptör etkileşimi için STRING üzerinde PPI gösterimi

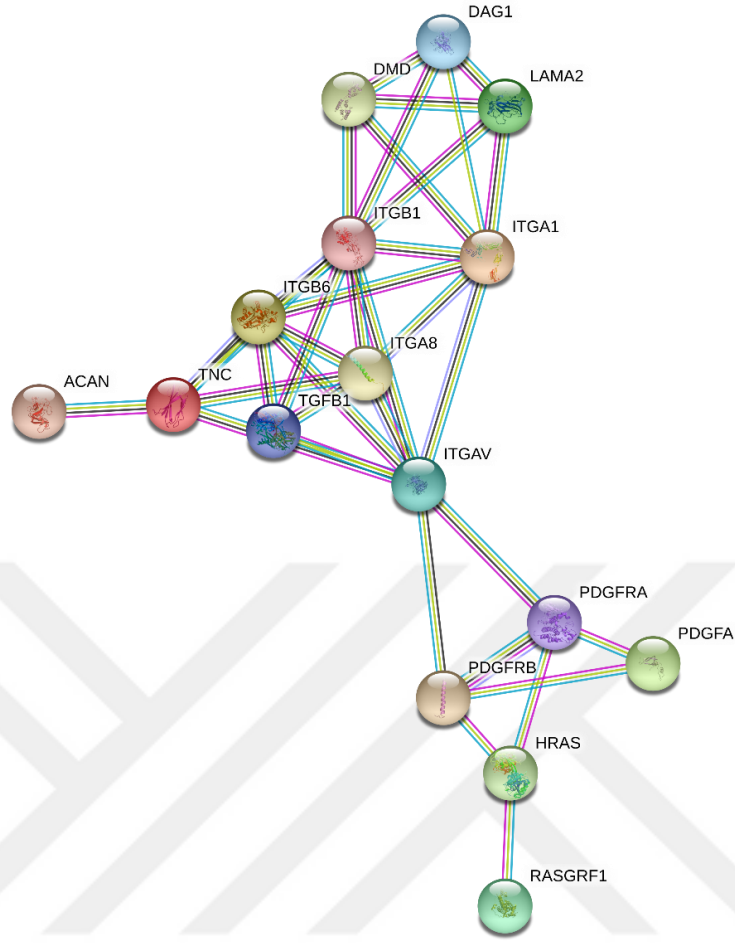
4.2.3.6. Focal Adhesion

Focal adhesion yolağında göze çarpan birçok kolorektal kanseri biyobelirteci bulunmaktadır. APC üzerinde %74,7 alterasyon oluşmuştur ve KRAS içinse % 41,8'lik bir değişim gözlenmektedir. RASGRF1, KRAS üzerinde bir etkileşim oluşturmuştur (Şekil 27).



Şekil 27. *Focal Adhesion* için cBioPortal üzerinde ağ haritası gösterimi

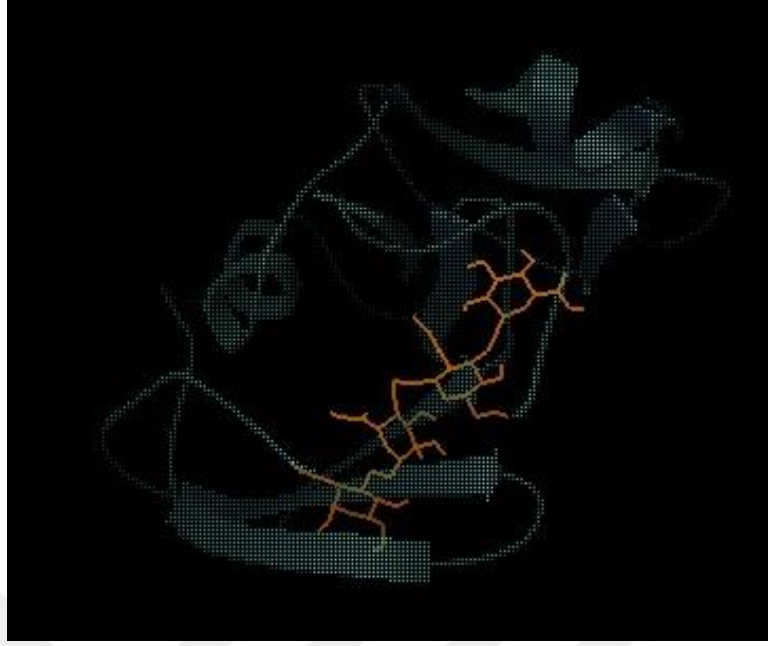
Focal adhesion için yapılan analiz sonucunda string üzerinde ise RASGRF1 proteini ile koleraktal kanseri için biyobelirteç kabul edilen RAS ailesinden olan HRAS proteini arasında bir etkileşim olduğu ortaya konmuştur (Şekil 28). Aynı zamanda TNC ve ITGAV proteinlerinin tümör yapılarında karşılaşılan büyüme faktörü TGFB1 ile doğrudan etkileşimi vardır.



Şekil 28. Focal adhesion için STRING üzerinde PPI gösterimi

4.3. Moleküler Doklama

Moleküler doklama sonuçlarına göre CD44 proteini için hyaluronik asit, A6' ya göre daha yüksek afinite göstermektedir. En yüksek skor $-7.11 \pm 0.06 \text{ kcal mol}^{-1}$ (hyaluronik asit) ve en düşük skor $-6.50 \pm 0.14 \text{ kcal mol}^{-1}$ (A6) olarak belirlenmiştir.



Şekil 29. CD44-HA moleküler doklama



Şekil 30. CD44-A6 moleküler doklama

5. TARTIŞMA

UDP - glukuronosiltransferaz (UGT) enzimleri, ilaçlar, steroidler, nörotransmitterler, safra asitleri ve diğer hormonları içeren eksojen ve endojen bileşiklerin glukuronidasyonundan sorumludur. UGT1A1 geni, UDP-glukuronosiltransferaz enzimlerin hazırlanmasına yönelik talimatlar veren gen ailesine aittir. Bu enzimler, glukuronidasyon adı verilen ve glukuronik asit denilen bir bileşiğin birkaç farklı maddeden birine bağlandığı (konjüge edilmiş) kimyasal bir reaksiyon gerçekleştirir. UGT1A1 geninden, bilirubin üridin difosfat glukuronosil transferaz (bilirubin-UGT) enzimi olarak üretilen protein, kırmızı kan hücreleri parçalandığında üretilen bir madde olan glukuronidize eden tek enzimdir. Bu enzim, bilirubinin (konjuge olmayan bilirubinin) toksik formunu toksik olmayan formuna (konjüge edilmiş bilirubine) dönüştürerek vücuttan çözünmesini ve uzaklaştırılmasını sağlar. Bilirubin-UGT enzimi, öncelikle bilirubin glukuronidasyonunun gerçekleştiği karaciğer hücrelerinde bulunur[74].

UGT1A1 * 28 ve * 6 polimorfizmleri taşıyan kolorektal kanseri hastalarda rutin olarak uygulanan irinotekan tedavisi uygulanması durumunda tüm evrelerinde ciddi nötropeni olduğu belirtilmiştir [75]. Aynı zamanda metastatik kolorektal kanseri hastalarda irinotekan tedavisi sonrasında tedaviye bağlı bilirubin seviyelerindeki artış UGT1A1 genotipiyle ilişkilendirilmiştir[76].

UGT1A7 * 3 alelinin yanı sıra varyant-211 UGT1A1 alelinin taşınması, KRK gelişimi için bir risk faktörüdür ve aynı zamanda, KRK'nin (metastaz veya değil) belirli patolojik aşamasının bir belirleyicisidir. Hem UGT1A7 * 3 hem de varyant-211 UGT1A1 aleline sahip kişilerde KRK'nin gelişimini ve metastazlarını ilişkilendiren risk, bu iki varyanttan birini taşıyanlardan daha yüksektir. UGT1A1 ve UGT1A7 genlerinin spesifik yapısının belirlenmesi, bazı risk altındaki gruplar için KRK önleme şansını veya KRK şiddetinde bir azalma şansını arttırmada yardımcı olabileceği ortaya atılmıştır [77]. UGT1A6 genotipiyle ilişkili düşük enzim aktivitesine sahip bireylerin KRK geliştirmeye daha yatkın olabileceği sonucuna ulaşılmıştır [78]. Bu çalışmada da UGT1A1, UGT1A7, UGT1A6 metastatik kolorektal kanseri ile ilişkili olduğu görülmüştür. Gen seti zenginleştirme analizinde GO ve KEGG analizlerinde anlamlı olarak saptanan yolların birçoğu UGT1A ailesini hedef göstermektedir.

Wang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada metastaz sürecinden sorumlu olabilecek farklı eksprese edilmiş genleri tanımlamak için karaciğer metastazı olan üç KRK hastasından ve karaciğer metastazı olmayan üç KRK hastasından elde edilen primer kolorektal tümör dokularında gelecek nesil sekanslama yapılmıştır. Bu çalışmada, 996 yukarı regüle edilmiş ve 1694 aşağı regüle edilmiş RNA içeren, 22 yukarı regüle ve 73 aşağı regüle edilmiş DEG tanımlanmıştır. Kantitatif gerçek zamanlı ters transkripsiyon (RT- qPCR) ve immünohistokimya (IHC) kullanarak doğrulama yapılan çalışmada en belirgin şekilde yukarı regüle edilmiş üç DEG'nin, HOXD10, UGT2A3 ve SLC13A2 olduğunu gösterirken, en belirgin şekilde aşağı regüle edilen beş DEG'nin, sırasıyla SPP1, CXCL8, MMP3, OSM ve CXCL6 olduğunu gösterdi. Aşırı eksprese olan bu genler, metastazların teşvik edilmesinde veya önlenmesinde önemli rol oynayabileceği gösterilmiştir[79].

Literatür aramasına göre (PUBMED)2012 yılından günümüze kadar(23/05/2019) “Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins system” ve “cancer” anahtar kelimeleri ile tarama yapıldığında sadece 5 çalışma bulunmaktadır ve bunun sadece 1 tanesi kolorektal kanseri ile ilişkilidir.

Fan ve Liu 2017 yılında STRING veritabanını kullanarak kolorektal kanserinin biyoinformatik analizini gerçekleştirmiştir. Bu çalışmaya göre HSPA6 gibi 203 yukarı regüle edilmiş DEG ve APCDD1 gibi 540 aşağı regüle edilmiş DEG dâhil olmak üzere toplam 743 DEG tanımlanmıştır. Protein katlanması, apoptotik süreç, transkripsiyon faktörü aktivitesi ve proteazom ile ilgili olan DEG'ler için 83 GO terimi tespit edilmiştir. Apoptoz ve hücre döngüsü de dahil olmak üzere 37 KEGG yolağı üzerin bozulma tespit edilmiştir. TP53, HAZIR ve ITGA2 gibi 46 düğüm geninin taranması ve önemli fonksiyonlara sahip üç modül PPI ağından çıkarılmıştır[80].

Liang ve arkadaşlarının 2016 yılında yaptıkları çalışmada GO, KEGG ve PPI analizleri içinde Cytoscape yazılımı kullanılmıştır. KEGG yolak analizleri sonucunda yukarı regüle edilmiş DEG'lerin hücre döngüsü ve DNA replikasyonunda zenginleştiğini gösterirken, aşağı regüle edilmiş DEG'ler ilaç metabolizmasında, ksenobiyotiklerin sitokrom P450 ile metabolizmasında ve retinol metabolizma yollarında zenginleştiğini göstermişlerdir. PPI ağından ilk 10 düğüm gen, GNG2, AGT, SAA1, ADCY5, LPAR1, NMU, IL8, CXCL12, GNAI1 ve CCR2 olarak tanımlanmıştır[81].

Sitokromlar P450(CYP), ksenobiyotiklerin oksidasyonundaki ana aktör oldukları ve ilaç güvenliği, kalıcılığı, biyoaktivasyonu ve ilaç-ilaç / gıda-ilaç etkileşimi için çok önemli bir rol oynamaktadırlar. Yapılan çalışmada en önemli CYP izoformlarından ikisi olan 2C9 ve 3A4 ile ilaç etkileşimini tahmin etmek için ağaç sınıflandırma, k-en yakın komşu modellemesi ve n-en yakın komşu modellemesi ile üç farklı sınıflandırma modeli kullanılarak 9122 ilaç benzeri bileşik ile kalibre edilmiştir. Bunun sonunda CYP3A4 aktif moleküllerin ayırt edici özellikleri hidroksil gruplarının varlığı ve/veya düşük polarizasyon/iyonlaşma potansiyeli olduğu ortaya çıkmıştır[82]. STRING üzerinde yapılan PPI analizi sonucunda ascorbate ve aldarate metabolizması, retinol metabolizması ve metabolik yolak üzerinde CYP3A4 önemli rol oynadığı gözlemlenmiştir. Bu çalışmada yapılan transkriptom analizi sonucunda 216 DEG arasında CYP3A4 bulunmamasına rağmen PPI analizi sonucunda ilaç direnç mekanizmaları ile ilişkili bulunmuştur.

Hyaluronan, hücre-hücre etkileşimlerinde ve hücre adezyonunda yer alan CD44 de dahil olmak üzere çeşitli reseptör proteinleri ile etkileşime girerek hücre sinyalleşmesini başlatan polianyonik, megadalton ölçekli bir polisakarittir. Vuorio ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada atomik moleküler dinamik simülasyon verilerinin mikrosaniye analizine bağlı olarak CD44-Hyaluronan etkileşimi için üç farklı bağlama modu tanımlanmıştır. Bu modlar ise “kristalografik”, “paralel” ve “dik” modları olarak adlandırılmıştır. Kristalografik mod mevcut literatürde iyi tanımlanırken, diğer iki mod bu çalışmada ilk kez gözlenmiştir[83]. CD44 ve hyalüronik asit(HA) arasındaki etkileşim geniş ölçüde çalışılmış ve hem histolojik hem de patolojik koşullarda farklı seviyelerde düzenlendiği bulunmuştur. HA ve CD44 arasındaki "afinite" bağlanma önemli görünmektedir[79,80]. ECM-reseptör etkileşim yolağı için cBioPortal üzerinde yapılan ağ haritasında CD44 ile HA etkileşimi bulunmaktadır. CD44 metastatik kolorektal kanseri hastalarında aday hedef olarak gösterilebilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

HGP'in devamında oluşan veri kütüphaneleri ve artan moleküler çalışmalar doğrultusunda hayatımıza giren sistem biyolojisi kavramı ile laboratuvar çalışmaları dışında *in silico* çalışmalarına da ihtiyaç duyulduğu görülmüştür. Omik verilerin gün geçtikçe daha çok erişilebilir olması hesaplamalı biyoloji alanını önemli bir noktaya taşımaktadır. Kanser gibi çok faktörlü karmaşık hastalıklar için yapılan araştırmalardaki son gelişmelerin gösterdiği gibi, hesaplamalı biyoloji, deneysel uzmanlara karmaşık sistemlerin ilkelerini ve çalışmalarını çözmede başarılı bir şekilde yardımcı olabilir. Altta yatan protein sinyalleme ağının ortaya çıkarılması, karsinogenezin moleküler mekanizmasının anlaşılmasına yardımcı olur. Bu sinyalleme ağları ve moleküler mekanizmalar kanser teşhisi, prognoz ve kişiselleştirilmiş tedavi için kullanılabilir.

Protein-protein etkileşim ağları karmaşık biyolojik sistemlerin işleyişinde genotip-fenotip ilişkilerinin daha iyi anlaşılması için önemli bir konuma gelmiştir. Bununla birlikte, protein-protein etkileşim ağlarını deneysel olarak karakterize etmek, çok çeşitli bilimsel ve teknik zorluklar barındırmaktadır. Bu nedenle, *in silico* PPI yaklaşımları, deneysel yaklaşımların sınırlamalarını tamamlayan ve PPI analizlerden elde edilen biyolojik anlayışın sağlamlığına katkıda bulunan önemli bir yol olarak görülmektedir. Bu bağlamda, *in silico* yaklaşımlarında ilaç keşfedilmesinde, hastalığa neden olan PPI ağlarının ve yollarının ortaya çıkarılmasında, ilaç hedefi proteinlerinin tanımlanmasında büyük önem kazanması muhtemeldir. Aynı zamanda *in silico* ilaç tasarım yazılımları, biyoteknoloji veya farmasötik alanında önemli bir rol oynadığından *in silico* yöntemler, hedef belirleme ve yeni ilaçların öngörülmesi için kullanılabilir.

Özetle, bu çalışmada yürütülen transkriptom analizi, KRK gelişimine aracılık eden genler/proteinler, moleküler yollar ve moleküler yollara bağlı etkileşimler hakkında bilgi verir. Metastatik olan ve olmayan KRK için yeni terapötik müdahalelerin teşhisi ve tasarlanması için potansiyel hedefler sağlar. Ksenobiyotik glukuronidasyon mekanizmaları, UDP-glukuronosiltransferaz enzimleri, ilaç direnç mekanizmaları metastatik kolorektal kanseri ile ilişkili bulunmuştur. İlaç direnç metabolizmalarında özellikle UGT1A ailesi ve PPI ağına bağlı olarak CYP3A4 ilişkili bulunmuştur. CD44 ise KRK için aday ilaç hedefi olarak

bulunmaktadır. Bu çalışmanın translasyonel onkoloji alanına tam bir fayda sağlaması için *in vitro* olarak doğrulanması önerilmektedir.



7. KAYNAKLAR

- [1] “Türkiye kanser istatistikleri 2015,” 2018.
- [2] Globocan, “No Title.” [Online]. Available: https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-table?v=2018&mode=cancer&mode_population=continents&population=900&populations=900&key=asr&sex=0&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&nb_items=5&group. [Accessed: 08-Jul-2019].
- [3] NIH, “No Title,” 2019. [Online]. Available: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/colorect.html>.
- [4] H. Kodaz, “Frequency of RAS Mutations (KRAS, NRAS, HRAS) in Human Solid Cancer,” *Eurasian J. Med. Oncol.*, 2017.
- [5] A. Burgess, K. Shah, O. Hough, and K. Hynynen, “HHS Public Access,” vol. 15, no. 5, pp. 477–491, 2016.
- [6] A. V. Kudryavtseva *et al.*, “Important molecular genetic markers of colorectal cancer,” *Oncotarget*, 2016.
- [7] A. K. Arrington *et al.*, “Prognostic and predictive roles of KRAS mutation in colorectal cancer,” *International Journal of Molecular Sciences*. 2012.
- [8] B. M. D. Vogelstein and E. R. B. A. Fearon, “Genetic Alterations during Colorectal-Tumor Development — NEJM,” *N. Engl. J. Med.*, 1988.
- [9] P. Aghagolzadeh and R. Radpour, “New trends in molecular and cellular biomarker discovery for colorectal cancer,” *World J. Gastroenterol.*, vol. 22, no. 25, pp. 5678–5693, 2016.
- [10] H. F. A. Vasen, I. Tomlinson, and A. Castells, “Clinical management of hereditary colorectal cancer syndromes,” *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*. 2015.

- [11] C. Palles *et al.*, “Germline mutations affecting the proofreading domains of POLE and POLD1 predispose to colorectal adenomas and carcinomas,” *Nat. Genet.*, 2013.
- [12] A. Guglielmo, N. Staropoli, M. Giancotti, and M. Mauro, “Personalized medicine in colorectal cancer diagnosis and treatment: A systematic review of health economic evaluations,” *Cost Effectiveness and Resource Allocation*. 2018.
- [13] F. Carrasco-Ramiro, R. Peiró-Pastor, and B. Aguado, “Human genomics projects and precision medicine,” *Gene Therapy*. 2017.
- [14] I. Tavassoly, J. Goldfarb, and R. Iyengar, “Systems biology primer: the basic methods and approaches,” *Essays Biochem.*, 2018.
- [15] J. Nielsen and M. C. Jewett, “Impact of systems biology on metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae*,” *FEMS Yeast Research*. 2008.
- [16] H. Kitano, “Computational systems biology,” *Nature*. 2002.
- [17] C. E. Wheelock *et al.*, “Systems biology approaches and pathway tools for investigating cardiovascular disease,” *Mol. Biosyst.*, vol. 5, no. 6, pp. 588–602, 2009.
- [18] M. Debnath, G. B. K. S. Prasad, P. S. Bisen, M. Debnath, G. B. K. S. Prasad, and P. S. Bisen, “Omics Technology,” *Mol. Diagnostics Promises Possibilities*, pp. 11–31, 2010.
- [19] J. T. MacGregor, “Biomarkers of Cancer Risk and Therapeutic Benefit: New Technologies, New Opportunities, and Some Challenges,” *Toxicol. Pathol.*, 2004.
- [20] A. Subramanian *et al.*, “Gene set enrichment analysis: a knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2005.
- [21] Z. Wang, M. Gerstein, and M. Snyder, “RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics,” *Nat. Rev. Genet.*, 2009.
- [22] B. T. Li, J. X. Lim, and M. H. T. Ling, “Analyzing Transcriptome-Phenotype

- Correlations,” in *Encyclopedia of Bioinformatics and Computational Biology*, 2018.
- [23] S. Zhao, W. P. Fung-Leung, A. Bittner, K. Ngo, and X. Liu, “Comparison of RNA-Seq and microarray in transcriptome profiling of activated T cells,” *PLoS One*, 2014.
- [24] M. Beyer *et al.*, “High-Resolution Transcriptome of Human Macrophages,” *PLoS One*, 2012.
- [25] Z. Wang and A. Ma’ayan, “An open RNA-Seq data analysis pipeline tutorial with an example of reprocessing data from a recent Zika virus study,” *F1000Research*, 2016.
- [26] P. C. Wright, J. Noirel, S. Y. Ow, and A. Fazeli, “A review of current proteomics technologies with a survey on their widespread use in reproductive biology investigations,” *Theriogenology*. 2012.
- [27] B. Karahalil, “Overview of Systems Biology and Omics Technologies.,” *Curr. Med. Chem.*, vol. 23, no. 37, pp. 4221–4230, 2016.
- [28] S. G. Oliver, M. K. Winson, D. B. Kell, and F. Baganz, “Systematic functional analysis of the yeast genome,” *Trends Biotechnol.*, 1998.
- [29] J. L. Spratlin, N. J. Serkova, and S. G. Eckhardt, “Clinical applications of metabolomics in oncology: A review,” *Clinical Cancer Research*. 2009.
- [30] C. Sanchez *et al.*, “Grasping at molecular interactions and genetic networks in *Drosophila melanogaster* using FlyNets, an internet database,” *Nucleic Acids Research*. 1999.
- [31] O. Keskin, A. Gursoy, B. Ma, and R. Nussinov, “Towards Drugs Targeting Multiple Proteins in a Systems Biology Approach,” *Curr. Top. Med. Chem.*, 2007.
- [32] E.-E. T. Online, “Interactome.” [Online]. Available: <https://www.ebi.ac.uk/training/online/glossary/interactome#>. [Accessed: 14-Jun-2019].
- [33] V. Sharma *et al.*, “Protein-protein interaction detection: Methods and analysis,” *Plant*

Biotechnol. Vol. 1 Princ. Tech. Appl., vol. 2014, no. ii, pp. 391–411, 2017.

- [34] S. Wachi, K. Yoneda, and R. Wu, “Interactome-transcriptome analysis reveals the high centrality of genes differentially expressed in lung cancer tissues,” *Bioinformatics*, 2005.
- [35] A. L. Barabási and Z. N. Oltvai, “Network biology: Understanding the cell’s functional organization,” *Nature Reviews Genetics*. 2004.
- [36] R. Sharan *et al.*, “Conserved patterns of protein interaction in multiple species,” *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2005.
- [37] L. CHEN, R.-S. WANG, and X.-S. ZHANG, *BIOMOLECULAR NETWORKS: Methods and Applications in Systems Biology*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., Hoboken,.
- [38] Z.-P. Liu, Y. Wang, X.-S. Zhang, and L. Chen, “Network-based analysis of complex diseases,” *IET Syst. Biol.*, 2012.
- [39] H. Seo, W. Kim, J. Lee, and B. Youn, “Network-based approaches for anticancer therapy (Review),” *International Journal of Oncology*. 2013.
- [40] Y. Murakami, L. P. Tripathi, P. Prathipati, and K. Mizuguchi, “Network analysis and in silico prediction of protein–protein interactions with applications in drug discovery,” *Current Opinion in Structural Biology*. 2017.
- [41] S. I. Berger and R. Iyengar, “Network analyses in systems pharmacology,” *Bioinformatics*. 2009.
- [42] D. Y. Zhang *et al.*, “Proteomics, pathway array and signaling network-based medicine in cancer,” *Cell Division*. 2009.
- [43] J. Nemunaitis *et al.*, “Proof concept for clinical justification of network mapping for personalized cancer therapeutics,” *Cancer Gene Ther.*, 2007.
- [44] R. Leinonen, H. Sugawara, and M. Shumway, “The sequence read archive,” *Nucleic*

Acids Res., vol. 39, no. SUPPL. 1, pp. 2010–2012, 2011.

- [45] R. Leinonen *et al.*, “The European nucleotide archive,” *Nucleic Acids Res.*, 2011.
- [46] A. Athar *et al.*, “ArrayExpress update - From bulk to single-cell expression data,” *Nucleic Acids Res.*, 2019.
- [47] Y. Kodama, M. Shumway, and R. Leinonen, “The sequence read archive: Explosive growth of sequencing data,” *Nucleic Acids Res.*, 2012.
- [48] J. Martin *et al.*, “Rnnotator : an automated de novo transcriptome assembly pipeline from stranded RNA-Seq reads Duplicate read removal Multiple Velvet assemblies,” *BMC Genomics*, 2010.
- [49] S. Andrews and Babraham Bioinformatics, “FastQC: A quality control tool for high throughput sequence data,” *Manual*. 2010.
- [50] T. Y. James *et al.*, “Sickle: a sliding-window, adaptive, quality-based trimming tool for FastQ files,” *Bioinformatics*, 2011.
- [51] M. Martin, “Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads,” *EMBnet.journal*, 2014.
- [52] B. Langmead and S. L. Salzberg, “Fast gapped-read alignment with Bowtie 2.,” *Nat. Methods*, 2012.
- [53] A. Dobin *et al.*, “STAR: Ultrafast universal RNA-seq aligner,” *Bioinformatics*, 2013.
- [54] D. Kim, G. Pertea, C. Trapnell, H. Pimentel, R. Kelley, and S. L. Salzberg, “TopHat2: accurate alignment of transcriptomes in the presence of insertions, deletions and gene fusions.,” *Genome Biol.*, 2013.
- [55] R. Patro, G. Duggal, M. I. Love, R. A. Irizarry, and C. Kingsford, “Salmon provides fast and bias-aware quantification of transcript expression,” *Nat. Methods*, 2017.
- [56] M. Robinson, D. McCarthy, Y. Chen, and G. K. Smyth, “edgeR : differential expression analysis of digital gene expression data User ’ s Guide,” *Most*, 2011.

- [57] C. Evans, J. Hardin, and D. M. Stoebe, "Selecting between-sample RNA-Seq normalization methods from the perspective of their assumptions," vol. 19, no. September 2016, pp. 776–792, 2018.
- [58] D. W. Huang, B. T. Sherman, and R. A. Lempicki, "Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources.," *Nat. Protoc.*, 2009.
- [59] M. Kanehisa and Goto, S., "KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Geneomes," *Nucleic Acids Res.* 2000.
- [60] M. Ashburner *et al.*, "Gene ontology: Tool for the unification of biology," *Nature Genetics.* 2000.
- [61] D. Szklarczyk *et al.*, "STRING v11: Protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets," *Nucleic Acids Res.*, 2019.
- [62] J. Gao *et al.*, "Integrative analysis of complex cancer genomics and clinical profiles using the cBioPortal," *Sci. Signal.*, 2013.
- [63] E. Ulgen, O. Ozisik, and O. U. Sezerman, "pathfindR: An R Package for Pathway Enrichment Analysis Utilizing Active Subnetworks," *bioRxiv*, 2018.
- [64] H. M. Berman *et al.*, "The Protein Data Bank Helen," *Nucleic Acids Res.*, 2000.
- [65] J. W. Krieger, "Single vs. multiple sets of resistance exercise for muscle hypertrophy: A meta-analysis," *Journal of Strength and Conditioning Research.* 2010.
- [66] O. Trott and A. J. Olson, "Software news and update AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading," *J. Comput. Chem.*, 2010.
- [67] W. Brand *et al.*, "Phase II metabolism of hesperetin by individual UDP-glucuronosyltransferases and sulfotransferases and rat and human tissue samples," *Drug Metab. Dispos.*, 2010.

- [68] J. Bellemare, M. Rouleau, H. Girard, M. Harvey, and C. Guillemette, "Alternatively spliced products of the UGT1A gene interact with the enzymatically active proteins to inhibit glucuronosyltransferase activity in vitro," *Drug Metab. Dispos.*, 2010.
- [69] J. Bellemare, M. Rouleau, M. Harvey, B. Ttêu, and C. Guillemette, "Alternative-splicing forms of the major phase II conjugating UGT1A gene negatively regulate glucuronidation in human carcinoma cell lines," *Pharmacogenomics J.*, 2010.
- [70] EMBL-EBI, "negative regulation of fatty acid metabolic process." [Online]. Available: <https://www.ebi.ac.uk/QuickGO/GTerm?id=GO:0045922>. [Accessed: 14-May-2019].
- [71] S. Ge, Y. Tu, and M. Hu, "Challenges and Opportunities with Predicting In Vivo Phase II Metabolism via Glucuronidation From In Vitro Data," *Curr. Pharmacol. Reports*, vol. 2, no. 6, pp. 326–338, 2016.
- [72] C. Werner, T. Doenst, and M. Schwarzer, *Metabolic Pathways and Cycles*. Elsevier Inc., 2015.
- [73] B. Yue, "Biology of the extracellular matrix: An overview," *J. Glaucoma*, vol. 23, no. 8, pp. S20–S23, 2014.
- [74] NIH, "NIH Genetic home reference-UDP glucuronosyltransferase family 1 member." [Online]. Available: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/UGT1A1>. [Accessed: 14-Jun-2019].
- [75] C. Atasilp *et al.*, "Correlation of UGT1A1 * 28 and * 6 polymorphisms with irinotecan-induced neutropenia in Thai colorectal cancer patients," *Drug Metab. Pharmacokinet.*, vol. 31, no. 1, pp. 90–94, 2016.
- [76] E. Marcuello, A. Altés, A. Menoyo, E. Del Rio, M. Gómez-Pardo, and M. Baiget, "UGT1A1 gene variations and irinotecan treatment in patients with metastatic colorectal cancer," *Br. J. Cancer*, 2004.
- [77] K. S. Tang *et al.*, "Link between colorectal cancer and polymorphisms in the uridine-diphosphoglucuronosyltransferase 1A7 and 1A1 genes," *World J. Gastroenterol.*,

2005.

- [78] E. M. J. vander Logt *et al.*, “Genetic polymorphisms in UDP-glucuronosyltransferases and glutathione S-transferases and colorectal cancer risk,” *Carcinogenesis*, 2004.
- [79] S. Wang *et al.*, “Transcriptome analysis in primary colorectal cancer tissues from patients with and without liver metastases using next-generation sequencing,” *Cancer Med.*, 2017.
- [80] Q. Fan and B. Liu, “Identification of the anticancer effects of a novel proteasome inhibitor, ixazomib, on colorectal cancer using a combined method of microarray and bioinformatics analysis,” *Onco. Targets. Ther.*, 2017.
- [81] B. Liang, C. Li, and J. Zhao, “Identification of key pathways and genes in colorectal cancer using bioinformatics analysis,” *Med. Oncol.*, 2016.
- [82] S. Nembri, F. Grisoni, V. Consonni, and R. Todeschini, “In Silico prediction of cytochrome P450-drug interaction: QSARs for CYP3a4 and CYP2C9,” *Int. J. Mol. Sci.*, 2016.
- [83] J. Vuorio, I. Vattulainen, and H. Martinez-Seara, “Atomistic fingerprint of hyaluronan–CD44 binding,” *PLoS Comput. Biol.*, 2017.
- [84] A. Spadea *et al.*, “Evaluating the Efficiency of Hyaluronic Acid for Tumor Targeting via CD44,” *Mol. Pharm.*, 2019.
- [85] A. Cadete and M. J. Alonso, “Targeting cancer with hyaluronic acid-based nanocarriers: Recent advances and translational perspectives,” *Nanomedicine*. 2016.

8. EKLER

8.1.Etik Kurul Onayı

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL KARARI

Sayın Prof.Dr.Yasemin BAŞBINAR

Araştırmanıza ilişkin Kurulumuz kararı aşağıda sunulmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederiz.

ETİK KOMİSYONUN ADI	DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
AÇIK ADRES	Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 2. Kat İnciraltı-İZMİR
TELEFON	0 232 412 22 54-0 232 412 22 58
FAKS	0 232 412 22 43
E-POSTA	etikkurul@deu.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	DOSYA NO:	4287-GOA
	ARAŞTIRMA	UZMANLIK TEZİ ☐ MÜNFERİT ARAŞTIRMA ☐ ÖÇM ☐ YÜKSEKLİSANS ☒ DOKTORA ☐
	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Veri Madenciliği ile Yeni İlaç Hedeflerinin Saptanmasına Yönelik İnteraktomikler: in silico bir senaryo
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI ve UZMANLIK ALANI	Prof.Dr.Yasemin BAŞBINAR Onkoloji Enstitüsü Temel Onkoloji A.D
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒ ÇOK MERKEZLİ ☐

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	Mevcut		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA İLE İLGİLİ LİTERATÜR	Mevcut		Türkçe ☐ İngilizce ☒ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	Mevcut		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU	Mevcut		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐

KARAR BİLGİLERİ	Karar No:2018/24-18 Tarih:04.10.2018
	Prof.Dr.Yasemin BAŞBİNAR'ın sorumlusu olduğu "Veri Madenciligi ile Yeni İlaç Hedeflerinin Saptanmasına Yönelik İnteraktomikler: İn silico bir senaryo" isimli klinik araştırmaya ait başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, etik açıdan çalışmanın gerçekleştirilmesinin uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.
ETİK KURUL BİLGİLERİ	
ÇALIŞMA ESASI	Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu İşleyiş Yönergesi İy Klinik Uygulamaları Kılavuzu
ETİK KURUL ÜYELERİ	

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsi yet	Araştırma ile ilişkili mi?		İmza
Prof.Dr.Ali Rıza ŞİŞMAN (Başkan)	Tıbbi Biyokimya	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Gül ERGÖR (Başkan Yardımcısı)	Halk Sağlığı	DEU Tıp Fakültesi Halk Sağlığı A.D.	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Nejat SARIOSMANOĞLU	Kalp Damar Cerrahisi	DEU Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	Katılmadı
Prof.Dr. Mehmet Refik MAS	Geriatri	DEU Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	Katılmadı
Prof.Dr.Ayşe Aydan ÖZKÜTÜK	Tıbbi Mikrobiyoloji	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Müge KIRAY	Fizyoloji	DEU Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Sevda ÖZKARDEŞLER	Anesteziyoloji	DEU Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon A.D.	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Sülen SARIOĞLU	Patoloji	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji A.D	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Bilge KARA	Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon	DEU Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Yüksek Okulu	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Ayhan ABACI	Pediyatrik Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları	DEU Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.M.Aylin ARICI	Tıbbi Farmakoloji	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	Katılmadı
Doç.Dr.Murat BEKTAŞ	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hemşireliği	DEU Hemşirelik Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hemşireliği	Erkek	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Yasemin SOYSAL	Tıbbi Biyoloji ve Genetik	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Uzm.Dr.Ahmet Can BİLGİN	Hukuk	DEU Tıp Tarihi ve Etik A.D	Erkek	E ☐	H ☒	Katılmadı
Mehmet Erhan ÖZKUL	Sağlık mensubu olmayan üye	D.E.U Tıp Fakültesi İdari Mali İşler	Erkek	E ☐	H ☒	

8.2.Özgeçmiş



BESTE UNCÜ

Kişisel Bilgiler

İletişim Bilgileri

Kimlik Numarası 32578851166
Doğum Tarihi 04/07/1989
İletişim Adresi Kılıçreis Mahallesi 281 Sok. No:2/2 Daire:14 Taktakoğlu Apartmanı B-blok
Telefon (553) 086 54 49
E-posta besteuncu@gmail.com
Web Adresi

Eğitim Bilgileri

05 Eylül 2013 - 15 Haziran 2015 (1 yıl 10 ay)
Lisans, Anadal/Normal Öğretim, ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ, TÜRKİYE
İSTATİSTİK BÖLÜMÜ, İSTATİSTİK PR.
Diploma Numarası: 143294
Ağırlıklı Genel Not Ortalaması: 3.47 / 4.0

01 Eylül 2008 - 25 Ağustos 2010 (2 yıl)
Ön Lisans, İkinci Öğretim, SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ, TÜRKİYE
BİLGİSAYAR TEKNOLOJİLERİ BÖLÜMÜ, BİLGİSAYAR PROGRAMCILIĞI PR. (İÖ)
Diploma Numarası: 1.B2.36.737
Ağırlıklı Genel Not Ortalaması: 3.01 / 4.0

Yabancı Dil Bilgileri

İNGİLİZCE (Okuma: İyi, Yazma: İyi, Konuşma: Orta)

Ar-Ge Yetkinlik

Bildiriler

A. LEBLEBİCİ, Z. IŞIK, G. ÇALIBAŞI KOÇAL, B. UNCÜ, N. YILDIRIM, E. DAŞKIN, A. PAKDEMİRLİ, Y. BAŞBINAR & E. B. ELLİDOKUZ, Over Kanseri Alt Tiplerinde Rna Sekans Analizi, Tam Metin Bildiri, International Hippocrates Congress On Medical An Health Sciences, 01 Mart 2019, 03 Mart 2019.

A. LEBLEBİCİ, B. UNCÜ, G. ÇALIBAŞI KOÇAL, A. PAKDEMİRLİ, N. YILDIRIM, N. MERT ÖZÜPEK, A. KARADAĞ, H. ELLİDOKUZ & Y. BAŞBINAR, Over Kanseriinde Piwi-etkileşimli Rna?ların Ham Veri Analizi, Tam Metin Bildiri, International Hippocrates

Congress On Medical An Health Sciences, 01 Mart 2019, 03 Mart 2019.

Y. BAŞBINAR, B. UNCU, A. LEBLEBİCİ, G. ÇALIBAŞI KOÇAL, E. Ç. ÇITAK, D. İNCE, B. B. SEVİNİR, G. B. KÜPELİ, R. E. ÇEÇEN, H. ELLİDOKUZ & H. N. OLGUN, A 3 Year Review Of A Cohort Turkish Paediatric Oncology Group (turkpedpgx), Poster Sunumu, 50th Congress Of The International Society Of Paediatric Oncology (siop), 16 Kasım 2018, 19 Kasım 2018, 1545-5009, 65, S2, 699 - 670.

A. LEBLEBİCİ, B. UNCU, A. ONAN, Y. BAŞBINAR & H. N. OLGUN, Artificial Intelligence Methods For Risk Assessment Of Neuroblastoma, Poster Sunumu, 50th Congress Of The International Society Of Paediatric Oncology (siop), 16 Kasım 2018, 19 Kasım 2018, 1545-5017, 65, S2, 271 - 271.

B. UNCU, A. LEBLEBİCİ, G. ÇALIBAŞI KOÇAL, Z. IŞIK & Y. BAŞBINAR, Investigation Of Potential Therapeutic Targets By Using In Silico Methods In Glioblastoma, Poster Sunumu, 25th Biennial Congress Of The European Association For Cancer Research, 30 Haziran 2018, 03 Temmuz 2018.

Yönetilen Tezler

B. UNCU (Tez Yazarı) , Y. BAŞBINAR (Tez Danışmanı) , Veri Madenciliği İle Yeni İlaç Hedeflerinin Saptanmasına Yönelik İnteraktomikler: İn Silico Bir Senaryo, SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ, TÜRKİYE, 2018.

Ödüller

Üniversite, Kurum veya Kuruluşların Verdiği Ödüller, Ulusal, Birincilik Ödülü, Mezuniyet, Ödül Alınan Kurum: ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ, TÜRKİYE, 15 Haziran 2015.

TÜBİTAK Burs ve Destekleri

Proje Bilgileri

116E866, Dolaşımdaki Kanserli Hücrelerin (Ctcs) Mekanik Sertlik (Cell Stiffness) Yapısındaki Değişimini Kantitatif Faz Görüntüleme Yöntemi Kullanarak Ölçen Holografik Tek Hücre Görüntüleme Tekniği, 1003 - Öncelikli Alanlar (2. Aşama), Burslu, Yürürlükte, ARDEB, EEEAG - Elektrik, Elektronik, Enformatik Araştırma Destek Grubu, Projeye Katılma/Ayrılma Tarihleri: 15.04.2018 - 16.04.2019, Proje Başlangıç/Bitiş Tarihleri: 15.12.2017 - 15.12.2020.

BİDEB Destekleri

BESTE UNCU, Etkinlik Destekleri ve Eğitim Bursları Müdürlüğü, 2210-A Genel Yurt İçi Yüksek Lisans Burs Programı, Başvurusu Reddedildi, 2017 - 2.

Panelistlik/İzleyicilik/Raportörlük Sayısı

Panelistlik/Dış Danışmanlık Sayısı	ARDEB/BİDEB 0	TEYDEB 0	Toplam 0
İzleyicilik/Danışmanlık Sayısı	ARDEB/BİDEB 0	TEYDEB 0	Toplam 0
Raportörlük Sayısı	ARDEB/BİDEB 0	TEYDEB 0	Toplam 0