

Araştırma Önerisi: Meme Kanseri Hücre Hatlarında İlaç Yanıtını Belirleyen Gen Ekspresyon Profillerinin Entegratif Analizi

1. Giriş ve Araştırma Sorusu

1.1. Araştırma Arka Planı

Meme kanseri, kadınlarda en yaygın kanser türlerinden biridir ve farklı moleküler alt tiplere sahiptir. Bu alt tipler (ER+, HER2+, Triple-negative vb.), farklı tedavi yanıtları ve prognozlar göstermektedir. Kanser hücrelerinin ilaç duyarlılığını belirleyen moleküler mekanizmaların anlaşılması, kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımları için kritik öneme sahiptir.

Jastrzebski ve arkadaşları (2018) tarafından yayınlanan "Integrative Modeling Identifies Key Determinants of Inhibitor Sensitivity in Breast Cancer Cell Lines" başlıklı çalışma, 30 meme kanseri hücre hattında gen ekspresyonu, mutasyon, kopya sayısı varyasyonları ve protein ekspresyonu gibi çeşitli moleküler verileri entegre ederek ilaç duyarlılığını belirleyen faktörleri incelemiştir. Bu çalışmada, özellikle 4E-BP1 protein ekspresyonunun mTOR inhibitör duyarlılığında önemli bir belirleyici olduğu bulunmuştur.

1.2. Araştırma Sorusu

Bu araştırma projesi, aşağıdaki temel soruları yanıtlamayı amaçlamaktadır:

Ana Araştırma Sorusu: Meme kanseri hücre hatlarında gen ekspresyon profilleri ile ilaç yanıtı arasındaki ilişki nedir ve bu ilişki farklı moleküler alt tipler arasında nasıl değişmektedir?

Alt Sorular: 1. Meme kanseri alt tipleri (ER+, HER2+, Triple-negative) arasında hangi genler diferansiyel olarak eksprese edilmektedir? 2. İlaç duyarlılığı (özellikle mTOR inhibitörleri) ile ilişkili gen ekspresyon imzaları nelerdir? 3. 4E-BP1 protein ekspresyonu ve mTOR inhibitör duyarlılığı arasındaki ilişki, diğer moleküler faktörlerden nasıl etkilenmektedir? 4. Gen ekspresyon profillerine dayalı olarak hücre hatlarının kümelenmesi, bilinen moleküler alt tiplerle ne ölçüde örtüşmektedir?

2. Metodoloji

2.1. Veri Kaynakları

Bu araştırmada, E-MTAB-4801 veri setinden elde edilen aşağıdaki veriler kullanılacaktır:

- **nor_gene_exp_sorted.tsv**: 30 meme kanseri hücre hattında normalize edilmiş gen ekspresyon verileri
- **Supplementary Table 3 - Drug response.xlsx**: Hücre hatlarının çeşitli ilaçlara yanıt verileri
- **Supplementary Table 4 - IC50.xlsx**: İlaç duyarlılığını gösteren IC50 değerleri
- **Supplementary Table 5 - RNAseq normalized.xlsx**: Normalize edilmiş RNA-seq verileri
- **Supplementary Table 6 - DNaseq mutations.xlsx**: Mutasyon verileri
- **Supplementary Table 7 - DNaseq copy number.xlsx**: Kopya sayısı varyasyonları
- **Supplementary Table 8 - RPPA-normalized.xlsx**: Protein ekspresyon verileri

2.2. Analiz Yaklaşımı

Araştırma, aşağıdaki analiz adımlarını içerecektir:

2.2.1. Veri Ön İşleme ve Keşifsel Analiz

- Veri setlerinin yüklenmesi ve temizlenmesi
- Eksik verilerin işlenmesi
- Gen ekspresyon verilerinin dağılımının incelenmesi
- Hücre hatları arasındaki korelasyonların hesaplanması
- Temel bileşenler analizi (PCA) ile hücre hatlarının dağılımının incelenmesi

2.2.2. Diferansiyel Gen Ekspresyon Analizi

- Hücre hatlarının moleküler alt tiplere göre sınıflandırılması
- EdgeR veya DESeq2 kullanılarak alt tipler arasında diferansiyel eksprese olan genlerin belirlenmesi
- Volcano plot ve ısı haritaları ile sonuçların görselleştirilmesi

2.2.3. İlaç Yanıtı ve Gen Ekspresyonu İlişkisinin Analizi

- İlaç yanıt verileri (IC50) ile gen ekspresyon verileri arasında korelasyon analizi
- Özellikle mTOR inhibitörleri için duyarlılık ile ilişkili genlerin belirlenmesi
- 4E-BP1 (EIF4EBP1) ekspresyonu ve mTOR inhibitör duyarlılığı arasındaki ilişkinin incelenmesi

- Çoklu değişkenli regresyon analizi ile ilaç yanıtını etkileyen faktörlerin modellenmesi

2.2.4. Fonksiyonel Analiz

- Diferansiyel eksprese olan genlerin Gen Ontoloji (GO) analizi
- KEGG yolak analizi ile biyolojik süreçlerin belirlenmesi
- Gen Seti Zenginleştirme Analizi (GSEA) ile hücre hatları arasındaki fonksiyonel farklılıkların incelenmesi

2.2.5. Entegratif Analiz

- Gen ekspresyon, mutasyon ve protein ekspresyon verilerinin entegrasyonu
- İlaç yanıtını belirleyen çoklu moleküler faktörlerin belirlenmesi
- Makine öğrenmesi yaklaşımları ile ilaç yanıtı tahmin modellerinin geliştirilmesi

2.3. Kullanılacak Yazılım ve Araçlar

Analizler, R programlama dili ve aşağıdaki paketler kullanılarak gerçekleştirilecektir:

- **Temel veri analizi:** tidyverse, readxl, dplyr, ggplot2
- **Biyoinformatik analiz:** DESeq2, edgeR, limma, clusterProfiler, biomaRt
- **Görselleştirme:** pheatmap, ComplexHeatmap, ggplot2, EnhancedVolcano
- **Makine öğrenmesi:** caret, randomForest, glmnet

3. Beklenen Sonuçlar

Bu araştırma projesinden aşağıdaki sonuçlar beklenmektedir:

1. **Meme kanseri alt tipleri arasındaki moleküler farklılıkların karakterizasyonu:**
2. ER+, HER2+ ve Triple-negative alt tipler arasında diferansiyel eksprese olan genlerin listesi
3. Alt tiplere özgü gen ekspresyon imzalarının belirlenmesi
4. **İlaç yanıtı ile ilişkili gen ekspresyon profillerinin tanımlanması:**
5. mTOR inhibitörleri ve diğerk kinaz inhibitörlerine duyarlılık ile ilişkili genlerin belirlenmesi
6. İlaç direnci mekanizmalarına ışık tutacak gen ekspresyon paternlerinin tanımlanması

7. **4E-BP1 ve mTOR inhibitör duyarlılığı arasındaki ilişkinin doğrulanması ve genişletilmesi:**

8. 4E-BP1 ekspresyonu ve mTOR inhibitör duyarlılığı arasındaki ilişkinin istatistiksel analizi

9. Bu ilişkiyi etkileyen diğer moleküler faktörlerin belirlenmesi

10. **Hücre hatlarının moleküler profillerine dayalı yeni sınıflandırma:**

11. Gen ekspresyon profillerine dayalı hücre hattı kümeleri

12. Bu kümelerin klinik ve moleküler özelliklerle ilişkilendirilmesi

13. **İlaç yanıtını tahmin eden entegratif modeller:**

14. Gen ekspresyonu, mutasyon ve protein ekspresyon verilerini entegre eden tahmin modelleri

15. Kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımları için potansiyel biyobelirteçlerin belirlenmesi

4. Konferans Sunumu Planı

4.1. Önerilen Başlık

"Meme Kanseri Hücre Hatlarında İlaç Yanıtını Belirleyen Gen Ekspresyon Profillerinin Entegratif Analizi"

4.2. Sunum Formatı

Sunum, aşağıdaki bölümleri içerecek şekilde 15-20 dakikalık bir sözlü sunum olarak planlanmaktadır:

1. **Giriş (2-3 dakika)**
2. Araştırma arka planı ve önemi
3. Araştırma sorusu ve hedefler
4. **Metodoloji (4-5 dakika)**
5. Veri kaynakları ve analiz yaklaşımı
6. R ile gerçekleştirilen analizlerin özeti
7. **Bulgular (7-8 dakika)**
8. Keşifsel veri analizi sonuçları

9. Diferansiyel gen ekspresyon analizi
10. İlaç yanıtı ve gen ekspresyonu ilişkisi
11. 4E-BP1 ve mTOR inhibitör duyarlılığı analizi
12. Fonksiyonel analiz sonuçları
13. **Tartışma ve Sonuç (2-3 dakika)**
14. Bulguların yorumlanması
15. Klinik uygulamalar için potansiyel çıkarımlar
16. Gelecekteki araştırma yönleri
17. **Soru-Cevap (3-5 dakika)**

4.3. Görsel Materyaller

Sunum, aşağıdaki görsel materyalleri içerecektir:

- PCA ve kümeleme analizlerini gösteren grafikler
- Diferansiyel eksprese olan genlerin volcano plot ve ısı haritaları
- İlaç yanıtı ve gen ekspresyonu arasındaki ilişkiyi gösteren scatter plot'lar
- GO ve KEGG yolak analizlerini gösteren zenginleştirme grafikleri
- Entegratif analiz sonuçlarını özetleyen şemalar

5. Zaman Çizelgesi

Araştırma projesi, Mayıs ayındaki konferans sunumu göz önünde bulundurularak aşağıdaki zaman çizelgesine göre yürütülecektir:

1. **Hafta 1:** Veri ön işleme ve keşifsel analiz
2. **Hafta 2:** Diferansiyel gen ekspresyon analizi ve ilaç yanıtı ilişkisi
3. **Hafta 3:** Fonksiyonel analiz ve entegratif analiz
4. **Hafta 4:** Sonuçların yorumlanması ve sunum hazırlığı

6. Kaynaklar

1. Jastrzebski K, Thijssen B, Kluin RJC, et al. Integrative Modeling Identifies Key Determinants of Inhibitor Sensitivity in Breast Cancer Cell Lines. Cancer Res. 2018;78(15):4396-4410. doi:10.1158/0008-5472.CAN-17-2698

2. Love MI, Huber W, Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol.* 2014;15(12):550. doi:10.1186/s13059-014-0550-8
3. Robinson MD, McCarthy DJ, Smyth GK. edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. *Bioinformatics.* 2010;26(1):139-140. doi:10.1093/bioinformatics/btp616
4. Yu G, Wang LG, Han Y, He QY. clusterProfiler: an R package for comparing biological themes among gene clusters. *OMICS.* 2012;16(5):284-287. doi:10.1089/omi.2011.0118
5. Hänzelmann S, Castelo R, Guinney J. GSEA: gene set variation analysis for microarray and RNA-seq data. *BMC Bioinformatics.* 2013;14:7. doi:10.1186/1471-2105-14-7