

ÖZET

Moleküler düzeyde süregelen çalışmalar DNA üzerindeki metilasyon değişimlerinin kompleks hastalıklar üzerinde önemli etkileri olduğunu göstermektedir¹. Günümüzde en ölümcül hastalıklar arasında yerini alan kanser türleri arasındaki biyolojik mekanizmaların korelasyonu ile ilgili kapsamlı bilgiye ulaşmak bu noktada kritik bir öneme sahiptir. Hücrede gelişim ve yanıt sisteminde görevli, hastalıklara karşı bloklayıcı etkisi olan metilasyon -epigenetik modifikasyon- sitozinin 5. karbonuna kovalent bağ ile bağlanmakta ve somatik hücrelerde yaklaşık %98 oranında sitozin ve guanin açısından zengin CpG adacıklarında bulunmaktadır².

Bu çalışmada ekspresyon ve metilasyon datalarının birlikte yorumlanarak meme (BRCA), kolon (COAD), prostat (PRAD) ve tiroid (THCA) kanserlerinde yüksek öneme sahip genomik bölgelerin tespiti amaçlanmaktadır. Ek olarak, duyarlı proteinlerle etkileşerek hastalık etkeni yolağın bir parçasını oluşturan interaktör adı verilen proteinlerin, belirtilen kanser türlerinde ortak etki mekanizmalarına katkısı araştırılmıştır.

METOT

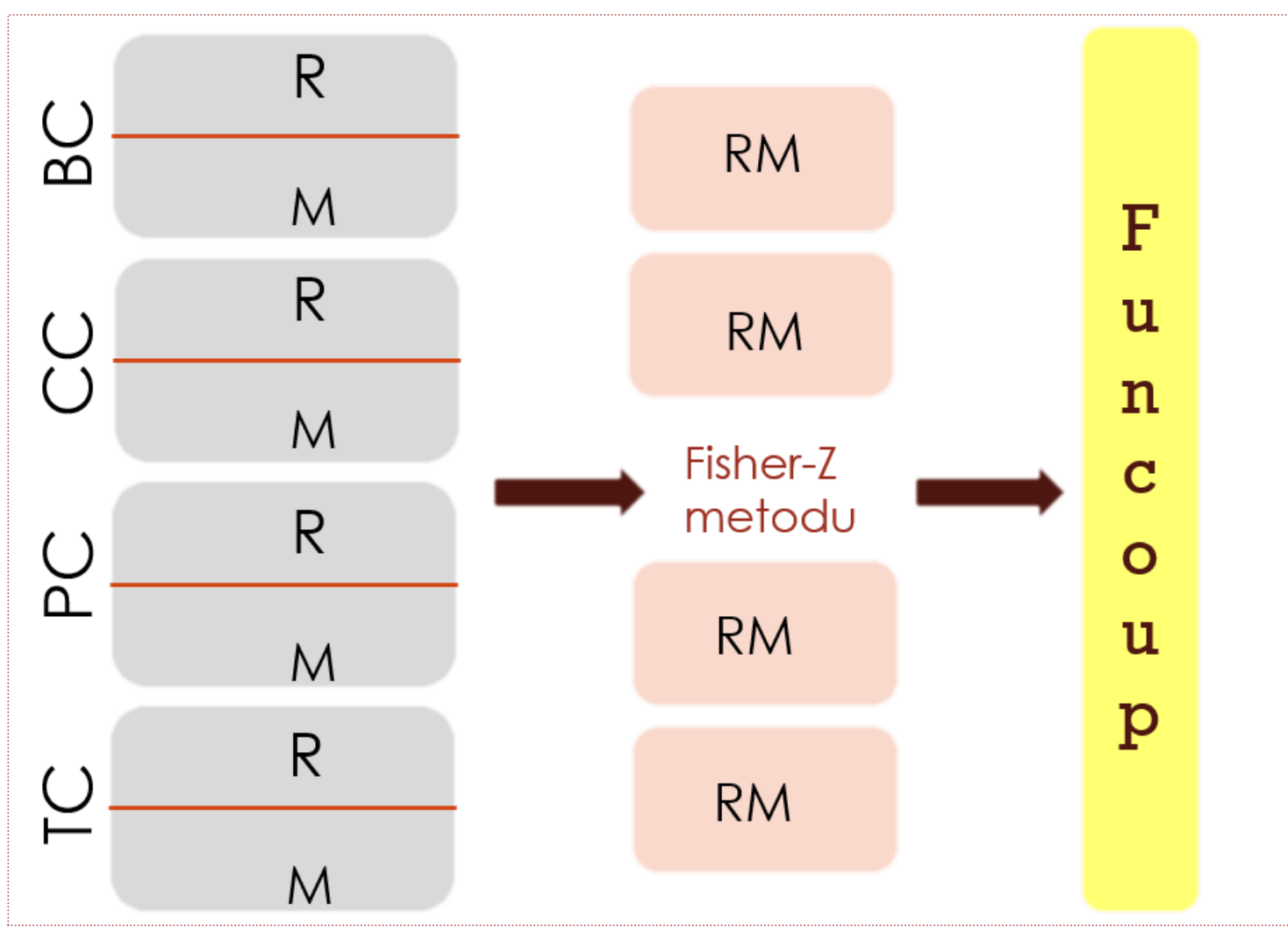
Kolon, prostat, tiroid ve meme kanser türlerine ait RNA ve metilasyon datasetleri Kanser Genom Atlası³ (TCGA) kullanılarak hazırlandı. Ekspresyon datası her bir gene özgü iken, metilasyon datası aynı gene ait farklı tipte CpG pozisyonlarını (3' UTR, 5' UTR, first exon vs.) içermektedir. Bu data çeşitliliğinden tutarlı bilgiyi elde etmek için her gene ait en yüksek dereceli öneme sahip metilasyon datası hesaplamalarda baz alınmıştır.

$$Z_w = \frac{W_X \frac{\sqrt{n_X} \bar{X}}{\hat{S}_X} + W_Y \frac{\sqrt{n_Y} \bar{Y}}{\hat{S}_Y}}{\sqrt{w_X^2 + w_Y^2}}$$

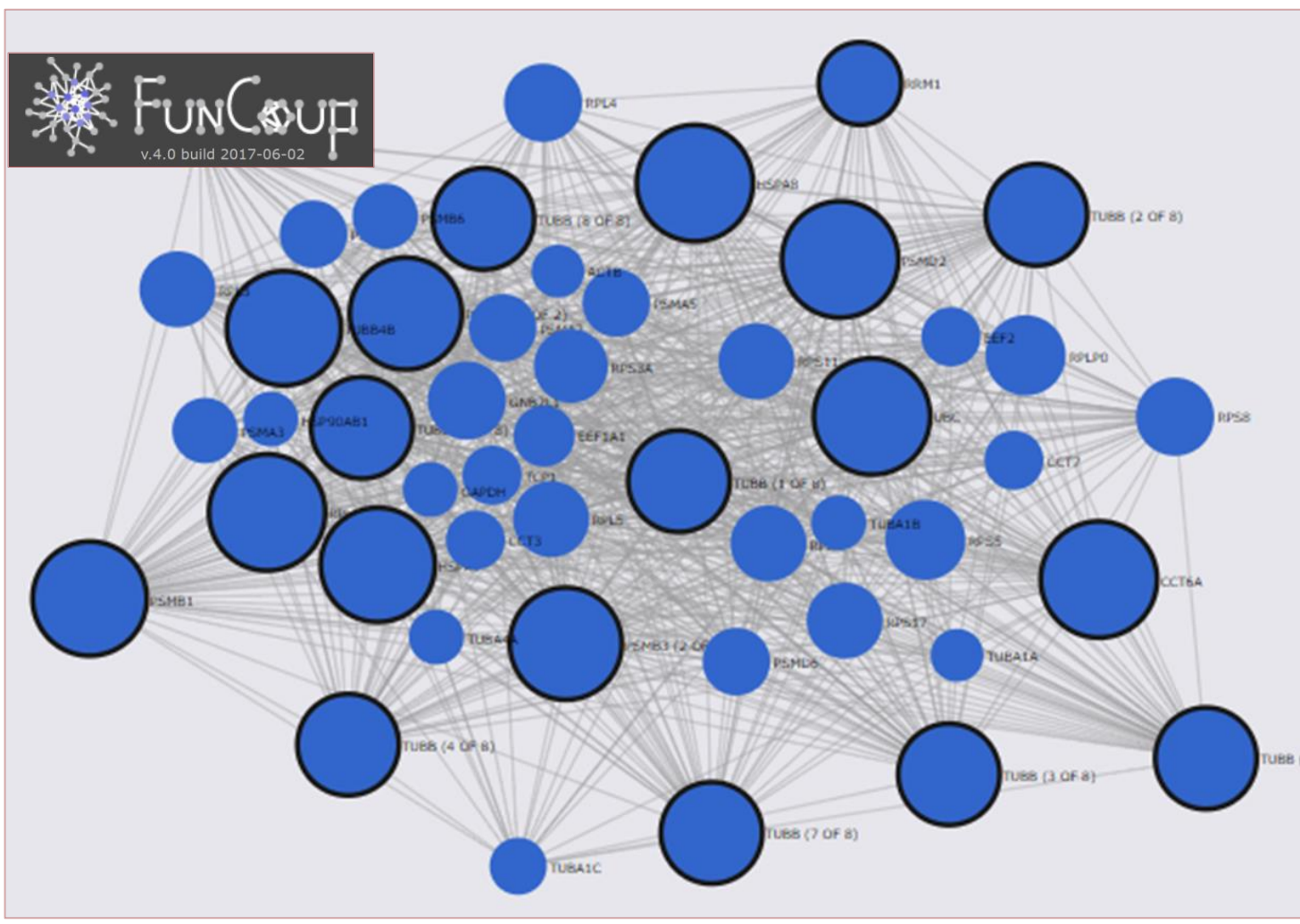
Denklem 1. Fisher-Z metodu

Fisher-Z metodu ile gene ekspresyon ve metilasyon p değerleri (p<0.05) kombine edilerek epigenetik ve kalıtsal faktörler beraber ele alınmıştır.

- Boyut (nX, nY)
- Örnek ortalaması (\bar{X}, \bar{Y})
- Standart sapma (\hat{S}_X, \hat{S}_Y)

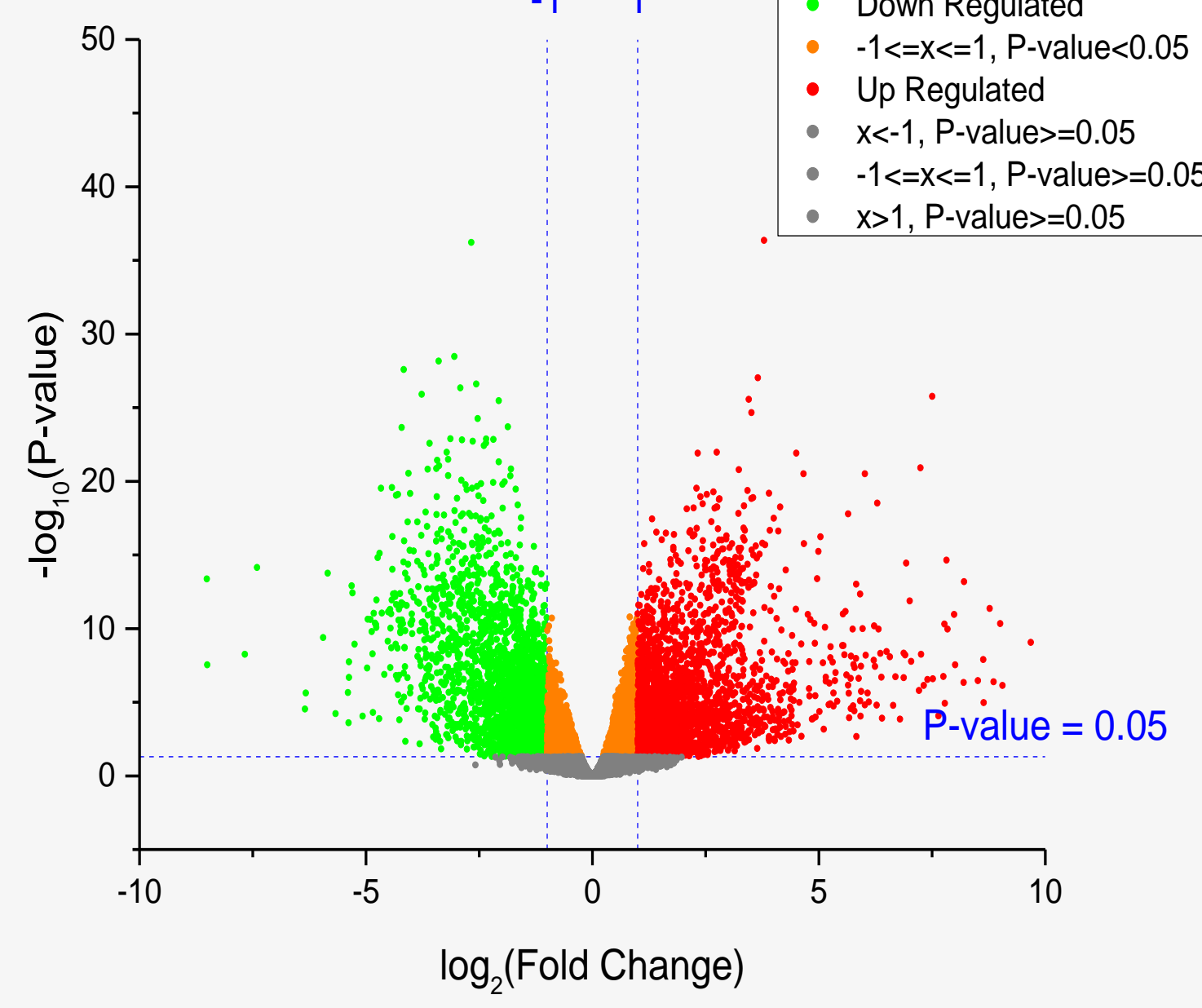


BC: Meme kanseri CC: Kolon Kanseri R: RNA datası
PC: Prostat Kanseri TC: Tiroid Kanseri M: Metilasyon datası

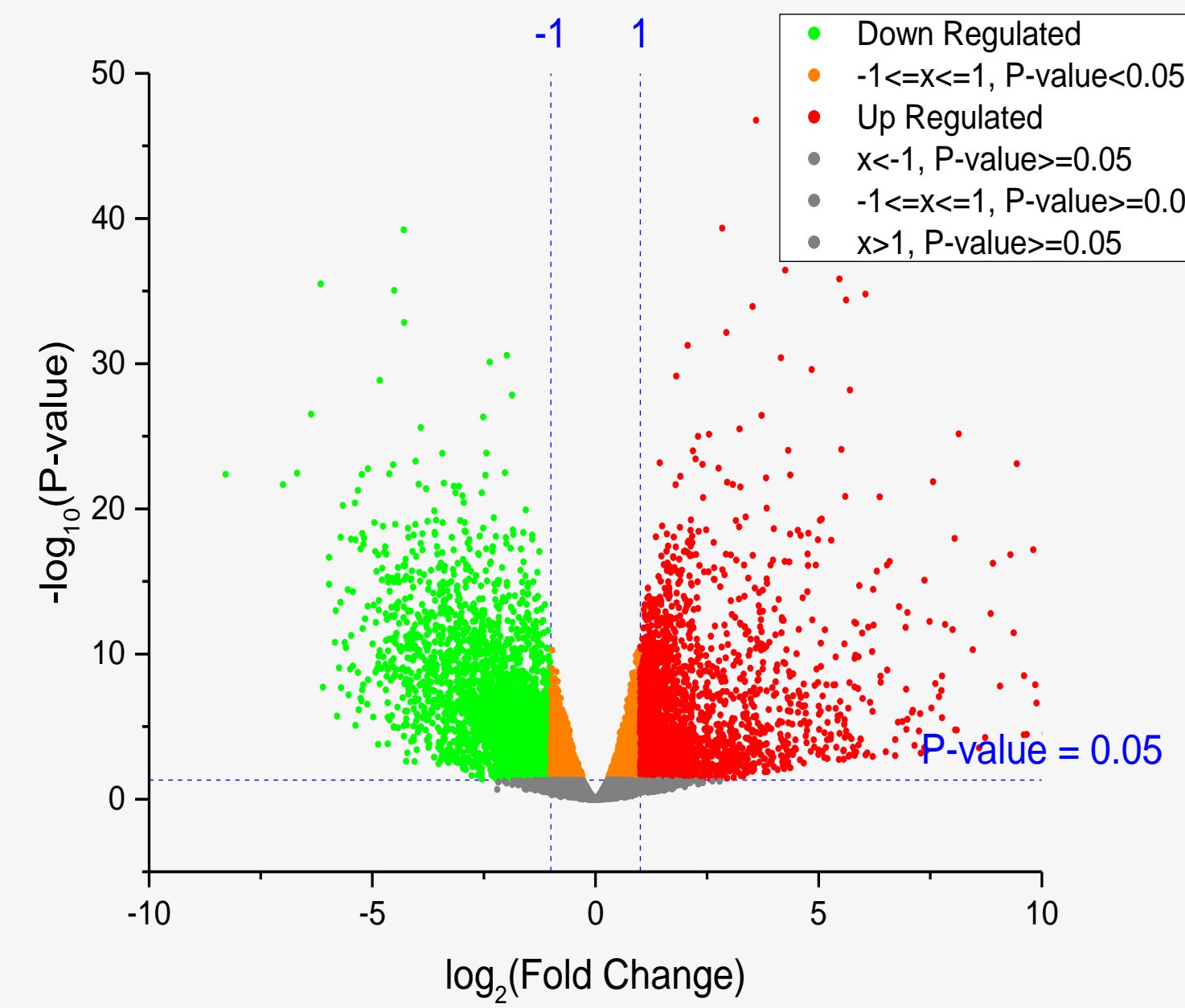


Figür 1. Proteinler arası etkileşim (FunCoup 4.0)

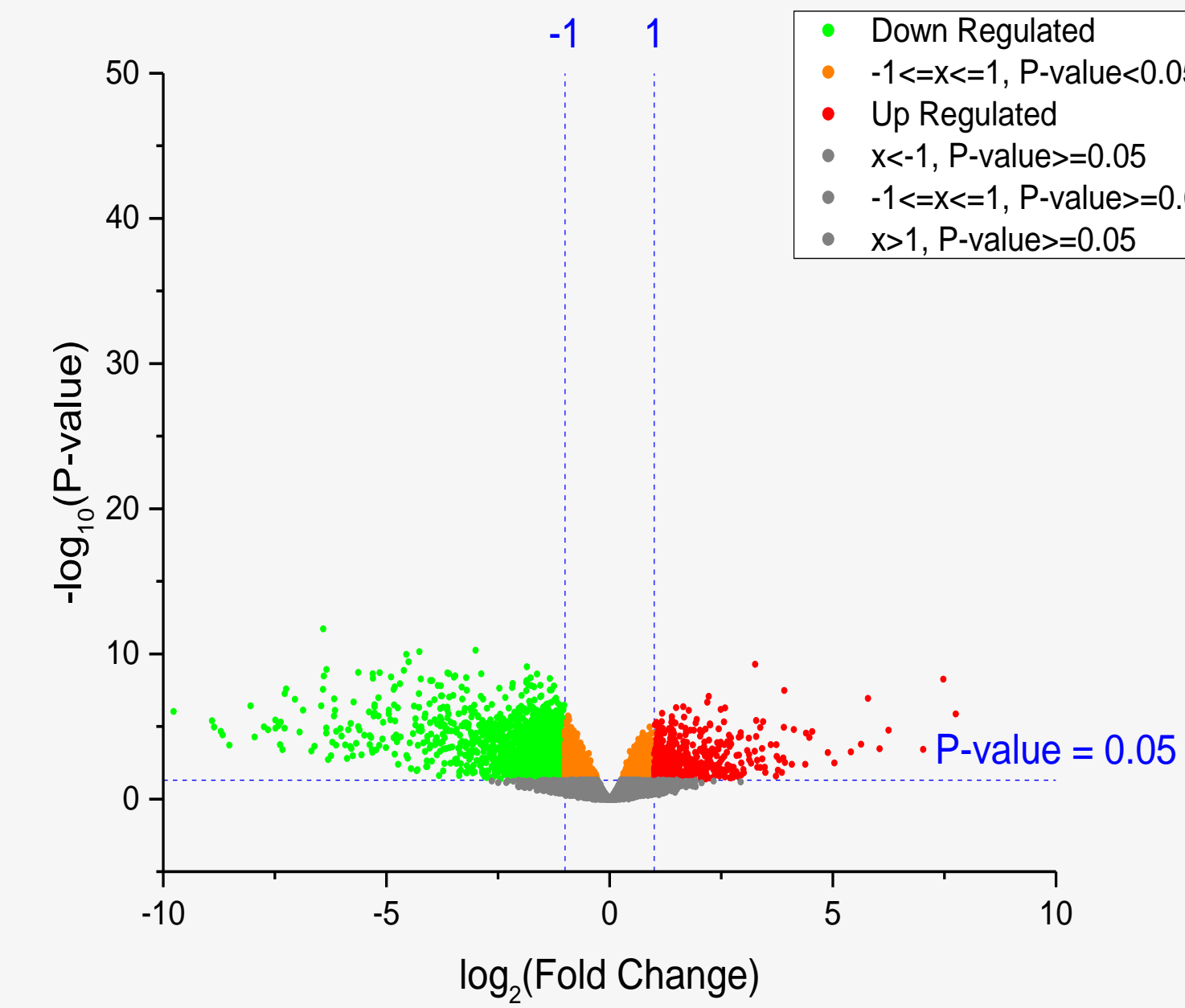
Fisher-Z ile kombine edilen datalardan öncelikle Venny tool ile ortak genler belirlenmiş, daha sonra FunCoup programı ile kanser türlerine ait proteinler arası etkileşimi incelemek üzere analizler yapılmıştır. Mavi nodlar proteini gösterirken, aralarındaki ilişki gri düz çizgilerle belirtilmiştir (Fig 1).



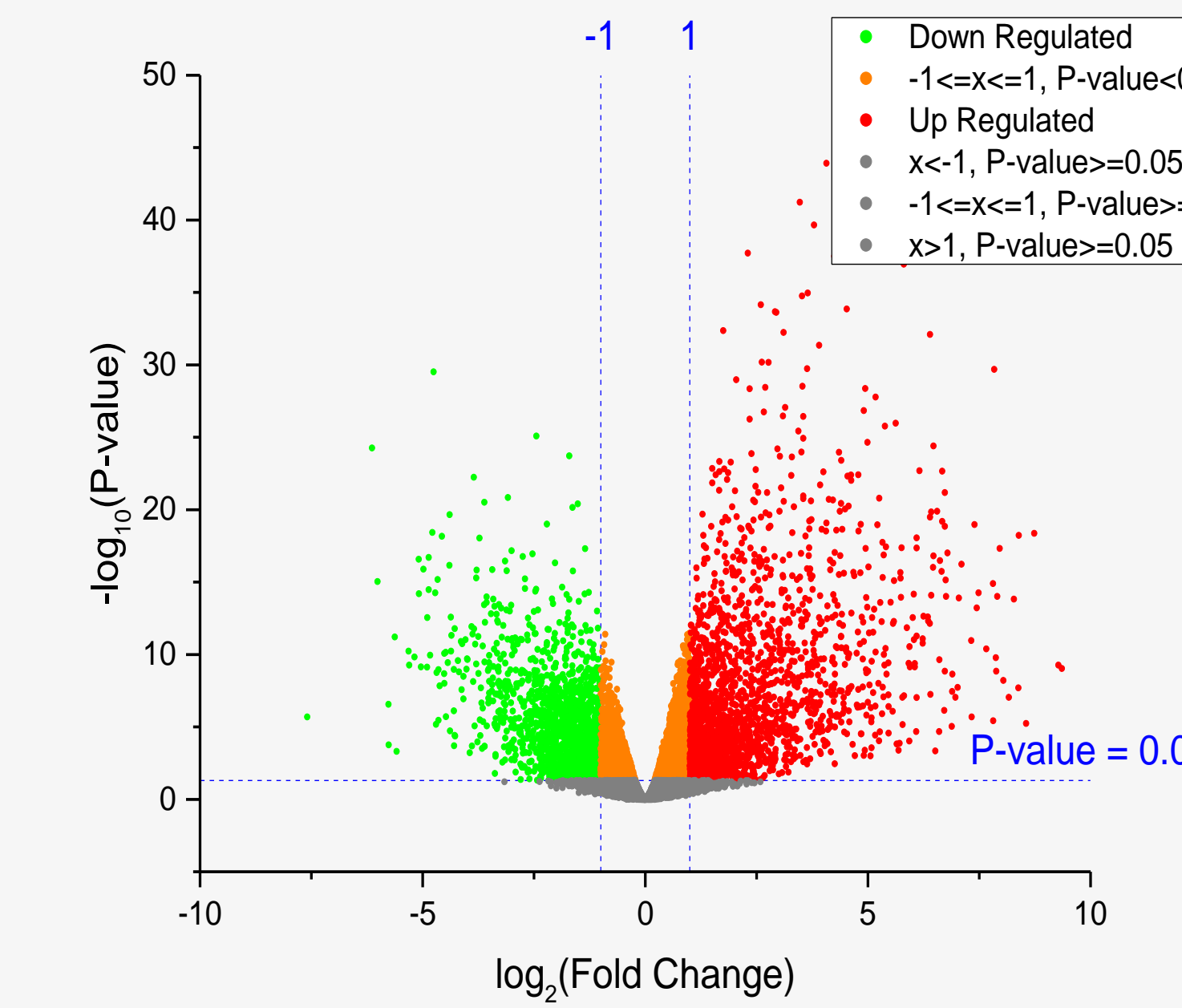
Figür 2. BRCA ekspresyon datası saçılım grafiği



Figür 3. COAD ekspresyon datası saçılım grafiği



Figür 4. PRAD ekspresyon datası saçılım grafiği



Figür 5. THCA ekspresyon datası saçılım grafiği

BİLGİLENDİRME

Bu posterde kullanılan datanın ön işleme sürecindeki katkısından dolayı Buğra Özer ve Osman Uğur Sezerman'a teşekkür ederiz.

KAYNAKÇA

¹M. Trerotola, V. Relli, P. Simeone and S. Alberti. "Epigenetic Inheritance and the Missing Heritability?" *Human Genomics*, vol. 9, pp. 17, Jul , 2015.

²J. Bilian, Y. Li, and K. D. Robertson. "DNA Methylation: Superior or Subordinate in the Epigenetic Hierarchy?" *Genes & Cancer*, vol. 2, pp. 607–617, Jun 2011.

³B. Ozer, U. Sezerman. "Analysis of the interplay between methylation and expression reveals its potential role in cancer actiology", *Functional & Integrative Genomics*, vol. 17, pp 53–68, Jan 2017.

SONUÇLAR

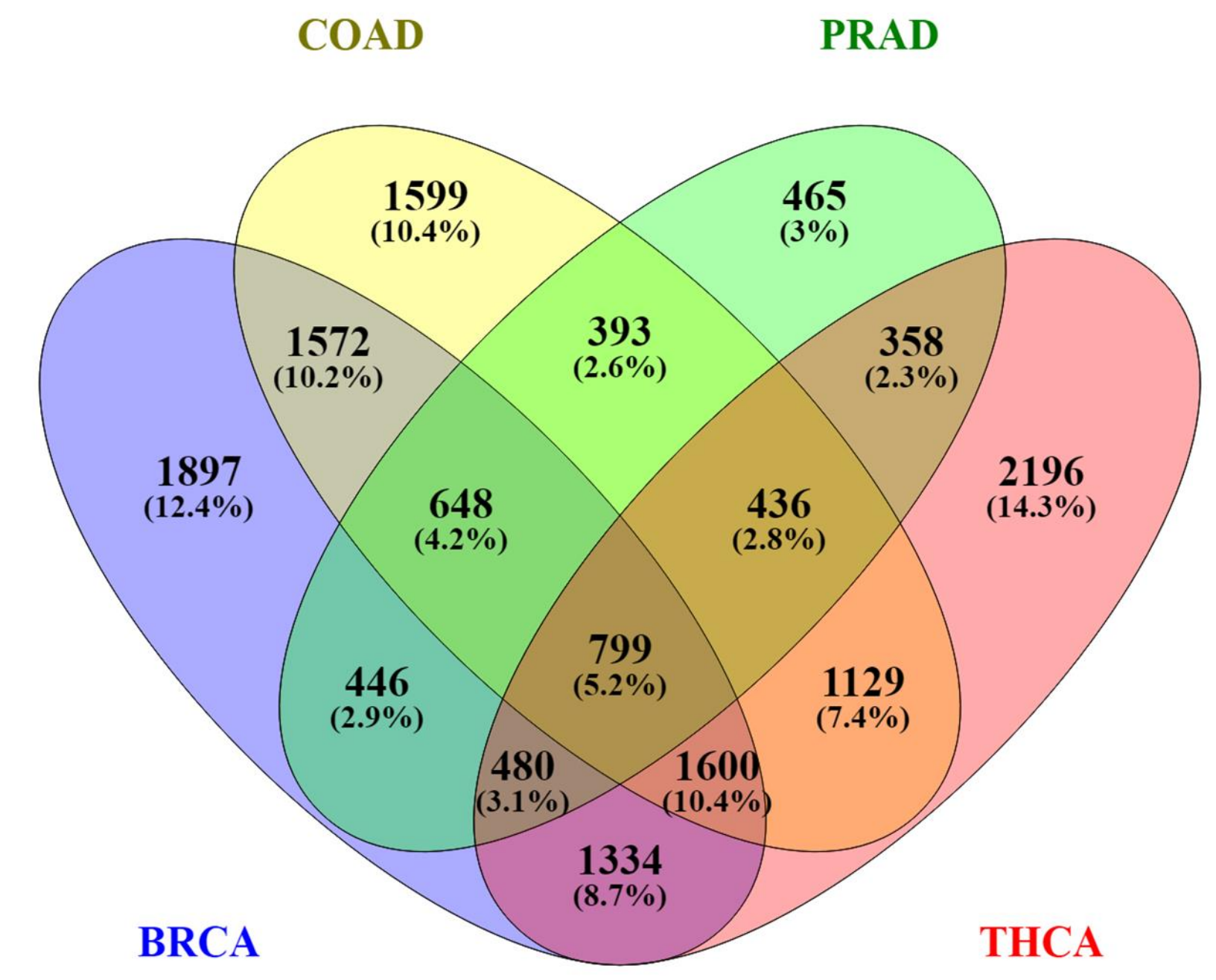
RNA ekspresyon analizi

Kanser türlerine ait ekspresyon düzeyinde meydana gelen değişimler saçılım grafiğinde gösterilmektedir (Fig 2). Her bir gen için p değeri ve katsayı değişimi kontrol örnekleri ile kıyaslanarak elde edilmiş, logaritmik tabanda hesaplanarak saçılım grafiğinde pozitif ve negatif değerler alan genlerin RNA düzeyinde etkisi görsel olarak aktarılmıştır.

Yeşil ve kırmızı alanlar sırasıyla azalan ve artan ekspresyon seviyesini gösterirken, gri platform anlamlı olmayan bölgeyi ifade etmektedir. Diğer data setlerine (Fig 2,3,5) kıyasla en az ekspresyon değişimi prostat kanserinde (PRAD) gözlenmiştir (Fig 4).

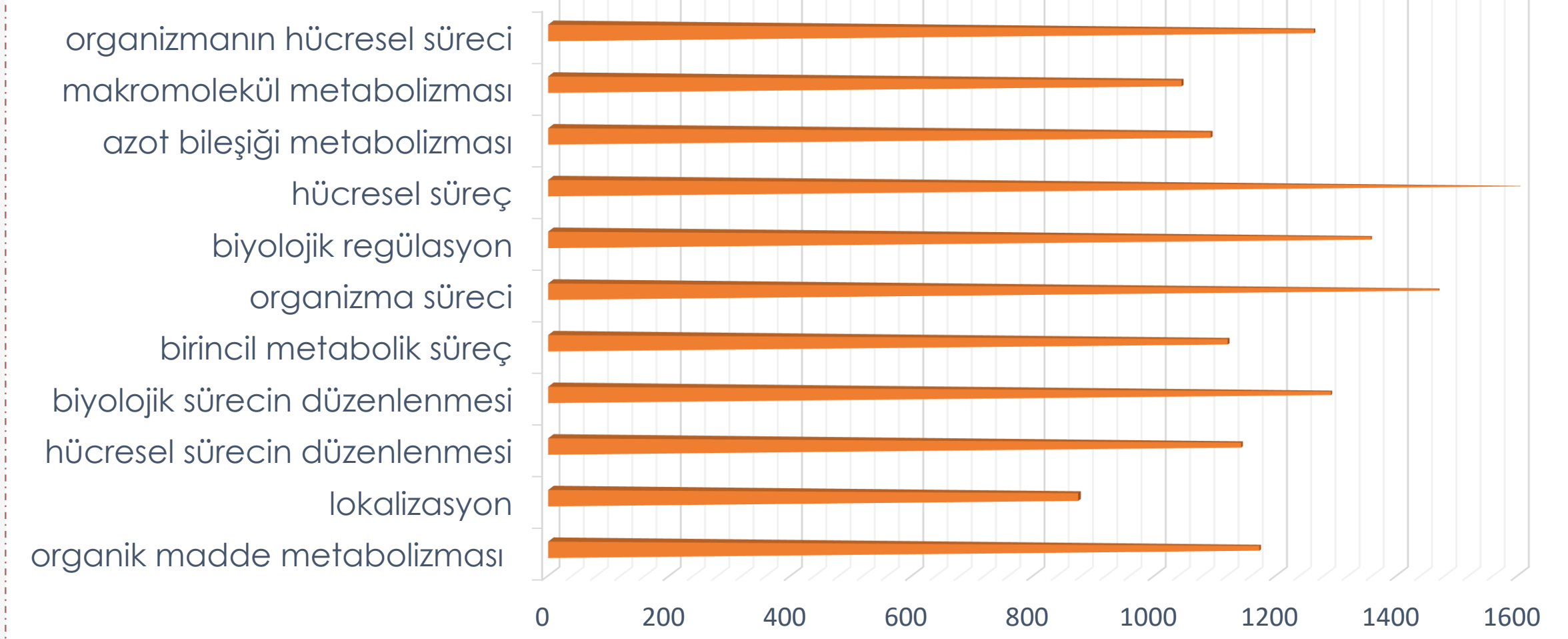
Kanser türlerinde anlamlı ortak genlerin keşfi

Figür 6'da görüldüğü gibi, kombine genlerin %5.2 si tüm kanser türlerinde görülmektedir. Bu yüzdeye karşılık gelen 799 gen funcoup programında analiz edilerek, ilgili genlerin interaktörleri belirlenmiş ve bunların hücre içindeki fonksiyonları incelenmiştir (Fig 7).



Figür 6. Kombine edilen anlamlı RNA ve metilasyon genlerinin kanser türlerinde görölme yüzdesi

Gen Ontolojisi (GO) Biyolojik Süreç



Figür 7. 4 kanser türüne ait ortak genlerin biyolojik süreç analizi

TARTIŞMA

- Bu çalışmada RNA ve metilasyon datalarından kombine p değeri (Fisher Z metodu) hesaplanarak hastalıkla ilgili gen ve proteinlerin mekanizması incelenmiştir.
- Genlerin ekspresyon düzeyindeki değişimi, RNA düzeyinde artış ve azalışlar ile analiz edilmiştir.
- İnteraktörler ilgili gen ile etkileşim halinde olup, kanserli mekanizmanın süreç boyunca regülasyonunu sağlar. Yalnızca daha önce belirlenmiş kanser genleri üzerinden yolak analizi ve ilaç geliştirme çalışmaları yapmak doğru sonuçlara ulaşmak için yeterli olmayabilir.
- Gen ve interaktomları beraber değerlendirmek karsinoma türlerinde daha kapsamlı çıkarımlar için önem arz etmektedir.