T.C.
GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DEK İZOFORMLARININ TRANSKRİPSİYON PROFİLLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

DİLAN YOLERİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

GEBZE
2023

T.C.
GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DEK İZOFORMLARININ TRANSKRİPSİYON PROFİLLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

DİLAN YOLERİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

DANIŞMANI
PROF. DR. AYTEN KANDİLCİ

GEBZE
2023

T.R.

GEBZE TECHNICAL UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

COMPARISON OF TRANSCRIPTION PROFILES OF DEK ISOFORMS

DİLAN YOLERİ

A THESIS SUBMITTED FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE

DEPARTMENT OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS

THESIS SUPERVISOR

PROF. DR. AYTEN KANDİLCİ

GEBZE

2023

GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ	**YÜKSEK LİSANS JÜRİ ONAY FORMU**

GTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 19/07/2023 tarih ve 2023/40 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından 03/08/2023 tarihinde tez savunma sınavı yapılan Dilan YOLERİ' nin tez çalışması Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

JÜRİ

ÜYE
(TEZ DANIŞMANI) : Prof. Dr. Ayten KANDİLCİ

ÜYE : Prof. Dr. Nuri ÖZTÜRK

ÜYE : Doç. Dr. Özlen KONU KARAKAYALI

ONAY

Gebze Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
……/…..…/..…..… tarih ve ……/……... sayılı kararı.

İMZA/MÜHÜR

ÖZET

Alternatif kırpılma, tek bir genden çoklu mRNA varyantlarının üretimini sağlar ve tümör oluşumunda önemli rol oynar. Birçok kanser çeşidinde DEK'in yüksek ifadesi gözlemlenmiş ve bu nedenle DEK'in bir onkoprotein olduğu kabul edilmiştir. DEK'in, hücre bölünmesine veya DNA onarımına müdahale etme, hücre farklılaşmasını, yaşlanmayı ve apoptozu inhibe etme fonksiyonu göstererek çeşitli kanser türlerinde tümörigenezi teşvik ettiği bilinmektedir. DEK'in bilinen iki izoformu mevcuttur (DEK-izoform 1 (DEK1) ve DEK-izoform 2 (DEK2)). Mevcut araştırmalar DEK olarak adlandırılan DEK1 üzerine yoğunlaşmakla beraber son yıllarda DEK2 üzerine çalışmalar da yapılmaktadır. Ancak bizim bilgimiz dahilinde literatürde, DEK1 ve DEK2 izoformlarının kanser türlerindeki ifadeleri ve bu ifadelerin hasta sağkalımı üzerine etkilerini içeren detaylı biyoinformatik inceleme bulunmamaktadır. Bu tez çalışmasında, DEK1 ve DEK2 izoformlarının ifadeleri TCGA Pan-kanser (TCGA-PANCAN) ve Kanser Hücre Hattı Kütüphanesi'nden (CCLE) alınan 11 kanser türünün RNA-seq verileri kullanılarak incelenmiştir. TCGA verileri kullanılarak *DEK* geninin ifadesiyle korelasyon gösteren genlerin ifadeleri ve bu genleri içeren sinyal yolakları incelenmiştir. TCGA verileri kullanılarak Kaplan-Meier grafikleri elde edilmiş ve kanser sağkalım analizlerine bakılmıştır. Ek olarak, zebra balığı *DEK* genine özgü primerler tasarlanarak zebra balığında *DEK* geninin ifadesine bakılmıştır. Sonuç olarak bu tez çalışmasında, DEK1 ve DEK2 ifadesinin primer tümör ve normal dokularda ifadelerinin farklı olduğu, bu iki izoformun bazı kanser hücre hatlarında ifadelerinin korelasyon gösterdiği, kanserde sağkalıma etkileri olduğu, DEK1 ve DEK2 ifadesi ile benzer ifade gösteren genlerin kanser ilişkili genler olduğu ve bu genlerin içerdiği sinyal yolaklarının tümör oluşum süreçlerinde yer aldığı belirlenmiştir. Ayrıca, zebra balığının farklı gelişim evrelerinde *DEK* geninin ifadesinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Elde ettiğimiz veriler, *DEK* geni ve izoformlarının kanser oluşum mekanizmalarına olan etkisinin anlaşılmasına ve daha sonra bu kanserlere yönelik geliştirilebilecek terapötik çalışmalara katkıda bulunacaktır.

Anahtar Kelimeler: DEK İzoformları, TCGA Pan-kanser, CCLE, kanser.

SUMMARY

Alternative splicing enables the production of multiple mRNA variants from a single gene and plays an important role in tumorigenesis. High expression of DEK has been observed in many types of cancer and therefore DEK has been accepted as an oncoprotein. DEK is known to promote tumorigenesis in various types of cancer by showing the function of interfering with cell division or DNA repair, inhibiting cell differentiation, senescence and apoptosis. There are two known isoforms of DEK (DEK-isoform 1 (DEK1) and DEK-isoform 2 (DEK2)). Although current research focuses on DEK1, which is called DEK, studies have also been carried out on DEK2 in recent years. However, to the best of our knowledge, there is no detailed bioinformatics analysis in the literature that includes the expressions of DEK1 and DEK2 genes in cancer types and the effects of these expressions on patient survival. In this thesis, the expressions of DEK1 and DEK2 isoforms were investigated using RNA-seq data of 11 cancer types from TCGA Pan-cancer (TCGA-PANCAN) and Cancer Cell Line Library (CCLE). Using TCGA data, the expressions of genes that correlate with the expression of the *DEK* gene and the signal pathways involving these genes were analyzed. Kaplan-Meier plots were obtained using TCGA data and cancer survival was analyzed. In addition, zebrafish *DEK* gene-specific primers were designed to look at the expression of the *DEK* gene in zebrafish. As a result, in this thesis study, it was observed that the expressions of DEK1 and DEK2 were different in primary tumor and normal tissues, and the expressions of these two isoforms were correlated in some cancer cell lines. It has been determined that these two isoforms have effects on survival in cancer. It has been found that genes showing similar expression as DEK1 and DEK2 are cancer-related genes and the signaling pathways contained in these genes are involved in tumor formation processes. Also, no significant change in the expression of the *DEK* gene was observed at different developmental stages of zebrafish. The data we have obtained will contribute to the understanding of the effects of the *DEK* gene and its isoforms on cancer formation mechanisms and to therapeutic studies that can be developed for these cancers later on.

Key Words: DEK Isoforms, TCGA Pan-Can, CCLE, cancer.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgisini, ilgisini, maddi ve manevi desteklerini eksik etmeyen, beni tezim konusunda yüreklendiren sevgili danışmanım Prof. Dr. Ayten KANDİLCİ ’ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tezimim oluşmasında büyük emeği geçen, laboratuvarının kapılarını bana açan, akademik kariyerime yön vermemde katkısı bulunan değerli hocam Doç. Dr. Özlen KONU KARAKAYALI ’ya emeği ve destekleri için çok teşekkür ederim. Saygıdeğer hocam Prof. Dr. Nuri ÖZTÜRK’e tez savunmamda yer aldığı için çok teşekkür ederim.

Tezimin oluşmasında büyük desteği olan Özlen Konu laboratuvar ekibinin üyeleri Melike TOMBAZ’a, Güneş TOK’a, Rüya TOMBULOĞLU’na Bilkent Üniversitesi’nde bulunduğum sırada tezime olan katkıları ve göstermiş oldukları arkadaşlıkları için en içten sevgi ve teşekkürlerimi sunmaktan mutluluk duyarım. Bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım ve tezime yaptıkları katkılarından dolayı hocam Dr. Emrah ÖZÇELİK ’e ve İ. Baki KILIÇ ’a ve Açelya YAŞAR ’a en içten teşekkürlerimi sunarım. Yüksek lisans eğitimim boyunca yolu beraber yürüdüğümüz değerli arkadaşım Züleyha ÖZDEMİR’ e teşekkürü bir borç bilirim. Ek olarak yüksek lisans eğitimimim boyunca beni maddi olarak destekleyen TÜBİTAK Bilim İnsanı Destek Programları Başkanlığı’na çok teşekkür ederim.

Son olarak hayatımdaki en büyük destekçilerim, aramızda kilometreler olsa da her daim yanımda olduklarını hissettiren, bugünlere gelmemi sağlayan değerli aileme sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	v
SUMMARY	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
TABLOLAR DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	2
2.1. Alternatif Kırpılma	2
2.2. *DEK* Geni ve İzoformları	4
2.2.1. *DEK* Geninin Kanser Türleri ile ilişkisi	5
2.3. Zebra balığı	8
2.4. RNA Dizileme Verileri	9
2.5. Kanser Genom Atlası (TCGA)	11
2.6. Kanser Hücre Hattı Ansiklopedisi (CCLE)	12
2.7. Gen İfadesi Profilleme Etkileşimli Analizi (GEPIA 2)	12
2.8. Kaplan-Meier Analizi	13
3. MATERYAL	14
4. METOT	16
4.1. Zebra Balığı Örneklerinin Toplanması	16
4.2. TRIZOL ile RNA İzolasyonu	17
4.2.1. cDNA Sentezi	17
4.2.2. RT-qPCR	18
4.3. Veri Toplama	19
4.4. Veri Analizi ve Yorumlaması	20
5. SONUÇLAR	22
5.1.Zebra balığında DEK mRNA İfadesinin Belirlenmesi	25
5.2. Kanser Hücre Hattı Kütüphanesi (CCLE) Verileri Kullanılarak	25

DEK1 ve DEK2 mRNA İfadelerinin Korelasyon Analizi
5.3. Kanser Genom Atlası (TCGA) Verileri Kullanılarak DEK 1 ve DEK 2 mRNA İfadelerinin Primer Tümör ve Normal Dokularda Karşılaştırılması 29
5.4. Kanser Genom Atlası (TCGA) Verileri Kullanılarak Primer Tümör Dokularda Yüksek ve Düşük DEK1 ve DEK2 mRNA İfadelerinde SağKalım Etkisinin Analizi 30
5.5. Kanser Genom Atlası (TCGA) Verileri Kullanılarak Primer Tümör Dokularda DEK1 ve DEK2 İfadesi ile Benzer İfade Gösteren Genlerin Bulunması 42
5.6. DEK1 ve DEK2 ile Benzer İfade Gösteren Genleri İçeren Sinyal Yolakların Analizi 59
6. TARTIŞMA 82

KAYNAKLAR 87
ÖZGEÇMİŞ 96
EKLER 97

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler ve Kısaltmalar	:	**Açıklamalar**
%	:	Yüzde
AML	:	Akut Miyeloid Lösemi
ATCC	:	Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu
CCLE	:	Kanser Hücre Hattı Kütüphanesi
cDNA	:	Tamamlayıcı DNA
COAD	:	Kolon Adenokarsinomu
DEK1	:	DEK izoform 1
DEK2	:	DEK izoform 2
DNA	:	Deoksiribonükleik asit
DSMZ	:	Alman Mikroorganizmalar ve Hücre Kültürleri Koleksiyonu
E2F3	:	E2F Transkripsiyon Faktör 3
ENK	:	Enterik Nöral Krest Hücresi
EMT	:	Epitelyal-Mezenkimal Geçişi
GBM	:	Glioblastoma
GEPIA 2	:	Gen İfadesi Profilleme Etkileşimli Analizi
GTEx	:	Genotip-Doku İfadesi
KCLB	:	Kore Hücre Hattı Bankası
KICH	:	Böbrek kromofob hücreli karsinom
KIRC	:	Böbrek renal berrak hücreli karsinom
KIRP	:	Böbrek renal papiller hücreli karsinomu
LIHC	:	Karaciğer Hepatosellüler Karsinomu
LUAD	:	Akciğer adenokarsinomu
LUSC	:	Akciğer skuamöz hücreli karsinomu
mRNA	:	Mesajcı Ribonükleik Asit
NUP153	:	Nükleoporin 153
NUP214	:	Nükleer gözenek komplex protein 214
NGS	:	Yeni Nesil Dizilemeyi
OV	:	Yumurtalık kanseri
PHIP	:	Pleckstrin homoloji alanı etkileşimli protein

PRAD	:	Prostat adenokarsinomu
RANBP9	:	RAN Bağlayıcı Protein 9
RBM12	:	RNA Bağlanma Motif Protein 12
RNA-Seq	:	RNA dizilimi
SAF	:	İskele bağlantı faktörü
SAP	:	SAF A/B- Acinus – PIAS
SNP	:	Tek nükleotid polimorfizmi
TCGA	:	Kanser Genom Atlas
THCA	:	Tiroid karsinomu
USP1	:	Ubiquitin Spesifik Peptidaz 1
USP37	:	Ubiquitin Spesifik Peptidaz 37

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No:		Sayfa
2.1:	Alternatif kırpılma mekanizması ve çeşitlerinin şekilsel gösterimi.	2
2.2:	DEK'in şematik yapısı ve DNA bağlanması için fonksiyonel alanlar.	4
2.3:	DEK ifadesini modüle eden ana düzenleyici elementlerin şematik özeti.	6
2.4:	Zebra balığı gelişim evrelerinin şekilsel gösterimi.	8
2.5:	RNA dizileme için iş akışı.	10
5.1:	Zebrabalığı 24, 48, 72, 96 ve 120. saatlerde toplanan örneklerin DEK gen ifadeleri q-PCR sonuçları.	23
5.2:	Zebra balığında yapılan RT-qPCR sonucunda primer set 1'in çoğalttığı zebra balığı DEK mRNA sekansının şekilsel gösterimi.	23
5.3:	Zebra balığında yapılan RT-qPCR sonucunda primer set 2'nin çoğalttığı zebra balığı DEK mRNA sekansının şekilsel gösterimi.	24
5.4:	Zebra balığında yapılan RT-qPCR sonucunda primer setlerinin çoğalttığı zebra balığı DEK protein sekansının şekilsel gösterimi.	24
5.5:	CCLE verisinden elde edilmiş göğüs kanseri hücre hatlarında DEK1 ve DEK2 mRNA ifadeleri.	25
5.6:	CCLE verisinden elde edilmiş kolon kanseri hücre hatlarında DEK1 ve DEK2 mRNA ifadeleri.	26
5.7:	CCLE verisinden elde edilmiş böbrek kanseri hücre hatlarında DEK1 ve DEK2 mRNA ifadeleri.	26
5.8:	CCLE verisinden elde edilmiş karaciğer kanseri hücre hatlarında DEK1 ve DEK2 mRNA ifadeleri.	27
5.9:	CCLE verisinden elde edilmiş akciğer kanseri hücre hatlarında DEK1 ve DEK2 mRNA ifadeleri.	27
5.10:	CCLE verisinden elde edilmiş yumurtalık kanseri hücre hatlarında DEK1 ve DEK2 mRNA ifadeleri.	28
5.11:	CCLE verisinden elde edilmiş prostat kanseri hücre hatlarında DEK1 ve DEK2 mRNA ifadeleri.	28

5.12: CCLE verisinden elde edilmiş tiroit kanseri hücre hatlarında DEK1 ve DEK2 mRNA ifadeleri. 29
5.13: TCGA primer tümör dokularının verilerinde normal dokuların verilerini entegre eden 10 tümörde DEK1 ve DEK2 ekspresyon farkı. 30
5.14: BRCA göğüs kanserinde (BRCA), sağkalım oranları için *DEK* geni ifadeleriyle K-M grafiği. 31
5.15: Kolon adenokarsinomunda (COAD), sağkalım oranları için *DEK* geni ifadeleriyle K-M grafiği. 32
5.16: Böbrek kromofob hücreli karsinomunda (KICH), sağkalım oranları için *DEK* geni ifadeleriyle K-M grafiği. 33
5.17: Böbrek renal berrak hücreli karsinomunda (KIRC), sağkalım oranları için *DEK* geni ifadeleriyle K-M grafiği. 34
5.18: Böbrek papiller renal hücreli karsinomunda (KIRP), sağkalım oranları için *DEK* geni ifadeleriyle K-M grafiği. 35
5.19: Karaciğer hepatosellüler karsinomunda (LIHC), sağkalım oranları için *DEK* geni ifadeleriyle K-M grafiği. 36
5.20: Akciğer adenokarsinomunda (LUAD), sağkalım oranları için *DEK* geni ifadeleriyle K-M grafiği. 37
5.21: Akciğer skuamöz hücreli karsinomunda (LUSC), sağkalım oranları için *DEK* geni ifadeleriyle K-M grafiği. 38
5.22: Yumurtalık kanserinde (OV), sağkalım oranları için DEK geni ifadeleriyle K-M grafiği. 39
5.23: Prostat adenokarsinomunda (PRAD), sağkalım oranları için *DEK* geni ifadeleriyle K-M grafiği. 40
5.24: Tiroid karsinomunda (THCA), sağkalım oranları için *DEK* geni ifadeleriyle K-M grafiği. 41
5.25: Göğüs kanserinde (BRCA) DEK ifadesi ile en benzer gen ifadesi gösteren genler. 42
5.26: Kolon adenokarsinomunda (COAD) DEK ifadesi ile en benzer gen ifadesi gösteren genler. 43
5.27: Böbrek kromofob hücreli karsinomunda (KICH) DEK ifadesi ile en benzer gen ifadesi gösteren genler. 43

5.28: Böbrek renal berrak hücreli karsinomunda (KIRC) DEK ifadesi ile en benzer gen ifadesi gösteren genler. 44
5.29: Böbrek papiller renal hücreli karsinomunda (KIRP) DEK ifadesi ile en benzer gen ifadesi gösteren genler. 44
5.30: Karaciğer hepatosellüler karsinomunda (LIHC) DEK ifadesi ile en benzer gen ifadesi gösteren genler. 45
5.31: Akciğer adenokarsinomunda (LUAD) DEK ifadesi ile en benzer gen ifadesi gösteren genler. 45
5.32: Akciğer skuamöz hücreli karsinomunda (LUSC) DEK ifadesi ile en benzer gen ifadesi gösteren genler. 46
5.33: Yumurtalık kanserinde (OV) DEK ifadesi ile en benzer gen ifadesi gösteren genler. 46
5.34: Prostat adenokarsinomunda (PRAD) DEK ifadesi ile en benzer gen ifadesi gösteren genler. 47
5.35: Tiroid karsinomunda (THCA) DEK ifadesi ile en benzer gen ifadesi gösteren genler. 47
5.36: Göğüs kanserinde (BRCA), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi. 60
5.37: Göğüs kanserinde (BRCA), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni sinyal yolağı analizi. 61
5.38: Kolon adenokarsinomunda (COAD), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi. 62
5.39: Kolon adenokarsinomunda (COAD), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi. 63
5.40: Böbrek kromofob hücreli karsinom (KICH), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi. 64

5.41: Böbrek kromofob hücreli karsinom (KICH), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi. 65
5.42: Böbrek renal berrak hücreli karsinomunda (KIRC), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi. 66
5.43: Böbrek renal berrak hücreli karsinomunda (KIRC), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi. 67
5.44: Böbrek papiller renal hücreli karsinomunda (KIRP), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi. 68
5.45: Böbrek papiller renal hücreli karsinomunda (KIRP), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi. 69
5.46: Karaciğer hepatosellüler karsinomunda (LIHC), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi. 70
5.47: Karaciğer hepatosellüler karsinomunda (LIHC), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi. 71
5.48: Akciğer adenokarsinomunda (LUAD), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi. 72
5.49: Akciğer adenokarsinomunda (LUAD), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi. 73
5.50: Akciğer skuamöz hücreli karsinomunda (LUSC), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi. 74
5.51: Akciğer skuamöz hücreli karsinomunda (LUSC), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi. 75

5.52: Yumurtalık kanserinde (OV), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi. 76
5.53: Yumurtalık kanserinde (OV), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi. 77
5.54: Prostat adenokarsinomunda (PRAD), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi. 78
5.55: Prostat adenokarsinomunda (PRAD), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi. 79
5.56: Tiroid karsinomunda (THCA), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi. 80
5.57: Tiroid karsinomunda (THCA), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi. 81

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo No:		Sayfa
3.1:	Laboratuvar Malzemeleri ve Kitleri.	14
3.2:	Zebra Balığı RT-qPCR Primerleri.	14
3.3:	Laboratuvar Ekipmanları.	15
3.4:	Solüsyonlar ve Tamponlar.	15
4.1:	cDNA sentez reaksiyon devirleri için kullanılan parametreler.	18
4.2:	qPCR reaksiyon devirleri için kullanılan parametreler.	19
5.1:	Kanser türlerinde DEK1 ve DEK2 yüksek ve düşük ifadelerindeki sağkalımı gösteren pearson değerleri.	41
5.2:	Göğüs kanserinde (BRCA) DEK1 izoformu ile benzer ifade gösteren genler.	48
5.3:	Göğüs kanserinde (BRCA) DEK2 izoformu ile benzer ifade gösteren genler.	48
5.4:	Kolon adenokarsinomunda (COAD) DEK1 izoformu ile benzer ifade gösteren genler.	49
5.5:	Kolon adenokarsinomunda (COAD) DEK2 izoformu ile benzer ifade gösteren genler.	49
5.6:	Böbrek kromofob hücreli karsinom (KICH) DEK1 izoformu ile benzer ifade gösteren genler.	50
5.7:	Böbrek kromofob hücreli karsinom (KICH) DEK2 izoformu ile benzer ifade gösteren genler.	50
5.8:	Böbrek renal berrak hücreli karsinomunda (KIRC) DEK1 izoformu ile benzer ifade gösteren genler.	51
5.9:	Böbrek renal berrak hücreli karsinomunda (KIRC) DEK2 izoformu ile benzer ifade gösteren genler.	51
5.10:	Böbrek papiller renal hücreli karsinomunda (KIRP) DEK1 izoformu ile benzer ifade gösteren genler.	52
5.11:	Böbrek papiller renal hücreli karsinomunda (KIRP) DEK2 izoformu ile benzer ifade gösteren genler.	52
5.12:	Karaciğer hepatosellüler karsinomunda (LIHC) DEK1 izoformu ile benzer ifade gösteren genler.	53

5.13: Karaciğer hepatosellüler karsinomunda (LIHC) DEK2 izoformu ile benzer ifade gösteren genler. 53
5.14: Akciğer adenokarsinomunda (LUAD) DEK1 izoformu ile benzer ifade gösteren genler. 54
5.15: Akciğer adenokarsinomunda (LUAD) DEK2 izoformu ile benzer ifade gösteren genler. 54
5.16: Akciğer skuamöz hücreli karsinomunda (LUSC) DEK1 izoformu ile benzer ifade gösteren genler. 55
5.17: Akciğer skuamöz hücreli karsinomunda (LUSC) DEK2 izoformu ile benzer ifade gösteren genler. 55
5.18: Yumurtalık kanserinde (OV) DEK1 izoformu ile benzer ifade gösteren genler. 56
5.19: Yumurtalık kanserinde (OV) DEK2 izoformu ile benzer ifade gösteren genler. 56
5.20: Prostat adenokarsinomunda (PRAD) DEK1 izoformu ile benzer ifade gösteren genler 57
5.21: Prostat adenokarsinomunda (PRAD) DEK2 izoformu ile benzer ifade gösteren genler. 57
5.22: Tiroid karsinomunda (THCA) DEK1 izoformu ile benzer ifade gösteren genler. 58
5.23: Tiroid karsinomunda (THCA) DEK2 izoformu ile benzer ifade gösteren genler. 58
5.24: Göğüs kanserinde (BRCA), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları. 60
5.25: Göğüs kanserinde (BRCA), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları. 61
5.26: Kolon adenokarsinomunda (COAD), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları. 62

5.27: Kolon adenokarsinomunda (COAD), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları. 63
5.28: Böbrek kromofob hücreli karsinom (KICH), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları. 64
5.29: Böbrek kromofob hücreli karsinom (KICH), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları. 65
5.30: Böbrek renal berrak hücreli karsinomunda (KIRC), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları. 66
5.31: Böbrek renal berrak hücreli karsinomunda (KIRC), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları. 67
5.32: Böbrek papiller renal hücreli karsinomunda (KIRP, DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları. 68
5.33: Böbrek papiller renal hücreli karsinomunda (KIRP), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları. 69
5.34: Karaciğer hepatosellüler karsinomunda (LIHC), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları. 70
5.35: Karaciğer hepatosellüler karsinomunda (LIHC), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları. 71
5.36: Akciğer adenokarsinomunda (LUAD), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları. 72
5.37: Akciğer adenokarsinomunda (LUAD), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları. 73

5.38: Akciğer skuamöz hücreli karsinomunda (LUSC), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları. 74
5.39: Akciğer skuamöz hücreli karsinomunda (LUSC), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları. 75
5.40: Yumurtalık kanserinde (OV), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları. 76
5.41: Yumurtalık kanserinde (OV), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları. 77
5.42: Prostat adenokarsinomunda (PRAD), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları. 78
5.43: Prostat adenokarsinomunda (PRAD), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları. 79
5.44: Tiroid karsinomunda (THCA), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları. 80
5.45: Tiroid karsinomunda (THCA), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları. 81

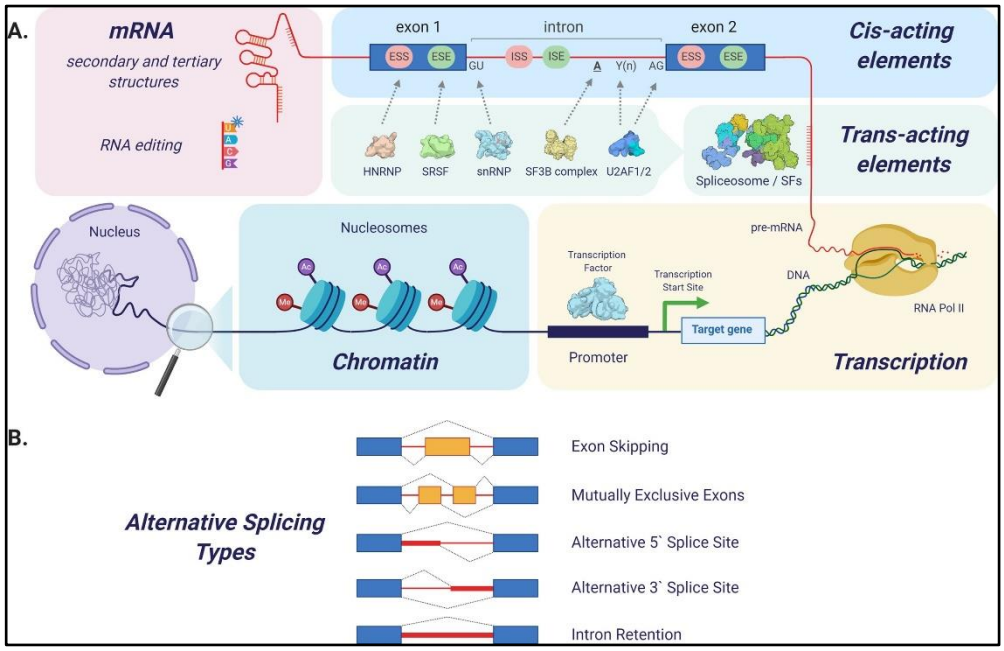
1. GİRİŞ

Tümör gelişim süreçlerinde önemli roller üstlenen alternatif kırpılma, tek bir genden çoklu mRNA varyantlarının ve protein ürünlerinin üretimini sağlar [Bonnal et al., 2020]. DEK proteininin bilinen iki izoformu bulunmaktadır. DEK izoform-2 (DEK2), DEK izoform-1'in (DEK1) alternatif-kırpılma varyantını temsil eder [Teng et al., 2017]. DEK1, çok sayıda hücresel sürecin düzenlenmesinde önemli bir rol oynayan hücre çekirdeğinde lokalize olan bir proteindir [Ishida et al.,2020]. DEK1'in kötü huylu tümörlerde genel olarak yüksek ifadesi, bu proteinin bir tümör belirteci olarak tanımlanmasına da yol açmıştır. Ayrıca yapılan in vitro çalışmalarda, *DEK* geninin yüksek ifadesinin, birçok kanser türünde kötü prognoza neden olduğu sağ-kalım analizleriyle gösterilmiştir [Piao et al., 2014], [Lin et al.,2013], [Wang et al., 2014]. DEK proteini ile ilgili şimdiye kadar yapılan araştırmalar çoğunlukla DEK1'in kanser gelişimindeki rolünü anlamaya odaklanmıştır fakat DEK2 ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu bilgiler dikkate alındığında DEK1 ve DEK2'nin tümör oluşum süreçlerindeki etkisinin incelenmesi büyük önem kazanmaktadır. Birçok biyolojik sürecin ve bu süreçlerin etkilerinin incelenmesi çalışmalarında zebra balığı tercih edilen model bir organizmadır ve kanser çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır. Bu tez çalışmasında, bizim bilgimiz dahilinde ilk kez, DEK proteini izoformlarının ifadesi zebra balığında da araştırılmıştır. Son yıllarda yapılan kanser çalışmalarında, çevrimiçi araçlardan yararlanılmaya başlanmıştır. Ancak literatürde, DEK1 ve DEK2'nin farklı kanserlerdeki ifadeleri ve bu ifadelerin hasta sağkalımı üzerine etkileri biyoinformatik veriler kullanılarak incelenmemiştir. Bu tez çalışmasında, DEK1 ve DEK2 izoformlarının ifadeleri farklı kanser türlerinde bir grup istatistiksel ve çevrimiçi araç kullanılarak karşılaştırılmıştır. Bu çalışma ile her iki izoformun sağlıklı dokulardaki, primer tümör dokularındaki ve kanser hücre hatlarındaki mRNA seviyeleri ve iki izoformun hasta sağkalımları üzerinde etkileri incelenmiştir. Ayrıca, DEK1 ve DEK2 izoformlarının ifadeleri ile korelasyon gösteren genler tespit edilmiştir. Ek olarak zebra balığında ifade edilen *DEK* genine özgü primerler tasarlanmış ve zebra balığında *DEK* geninin ifadesi analiz edilmiştir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Alternatif Kırpılma

Alternatif kırpılma, aynı genden gelen ekzonların farklı kombinasyonlarda birleştirildiği, farklı ancak ilişkili mRNA transkriptlerine yol açan hücresel bir işlemdir. Elde edilen protein ürünleri birbirinden farklı fonksiyonlara sahip olabilir. Alternatif kırpılma, hücrede moleküler çeşitliliğin sağlanması ve biyolojik süreçlerin doğru bir şekilde ilerlemesi için önemlidir. Şekil 2.1'de alternatif kırpılma şematize edilmiştir [Singh and Eyras ,2017].



Şekil 2.1: Alternatif kırpılma mekanizması ve çeşitlerinin şekilsel gösterimi.

Alternatif kırpılmanın genel olarak tanımlanmış beş türü vardır [Black, 2003], [Pan et al., 2008], [Matlin et al., 2005]. Bu kırpılma türleri ekzon atlama, ekzon dışlama, alternatif 5' kırpılma bölgesi, alternatif 3' kırpılma bölgesi ve intron tutmadır. Ekzon atlamada olgun mRNA'dan seçilmiş bir ekzon çıkarılır. Alternatif 5' kırpılma bölgesi ve alternatif 3' kırpılma bölgesi kırpılması ise bir intronun bir kısmının dahil edilmesi veya bir ekzonun bir kısmının hariç tutulmasıdır. Ekzon dışlamada, komşu iç ekzon kümesinin yalnızca bir ekzonu olgun transkriptte tutularak farklı kırpılma

varyantları üretilir. İntron tutmada ise tüm intronik sekans transkriptte tutulur [Boutz et al., 2015].

Alternatif kırpılma, splaysozom (spliceosome) tarafından gerçekleştirilir. *S*playsozom, intronların pre-mRNA'dan çıkarılmasını katalize eden büyük bir nükleer RNA-protein kompleksidir. Alternatif kırpılmanın sonucu olarak olgun mRNA'nın oluşması, tamamen cis-etkili elementler ve trans-etkili faktörler arasındaki etkileşim tarafından tanımlanır. Bu elementler arasındaki iş birliği, splaysozomun aktivitesinin teşvik edilmesi veya engellenmesi ile sonuçlanabilir [Wang et al., 2015]. Ekzonik/intronik arttırıcılar (ESE/ISE) cis-etkili sekanslardır ve splaysozom için önemlidir. Trans-etkili splayz (splice) proteinleri, heterojen nükleer ribonükleoproteinler (hnRNP) ve serin/arjinin açısından zengin (SR) proteinlerdir. *S*playsozom, beş ana RNA-protein alt birimi U1, U2, U4, U5 ve U6 küçük nükleer ribonükleoprotein parçacıkları (snRNP'ler) ve ek olarak snRNP olmayan bir protein ekleme grubu içermektedir. *S*playsozomun splayz düzenlenmesinin başlaması için, snRNP U1 tarafından 5' uç birleştirme bölgesi tanınır, birleştirme faktörü 1 (SF1) dallanma noktasına (branch point) bağlanır. Bu olayı takiben U2 yardımcı faktörü (U2AF) heterodimeri polipirimidin yoluna ve 3' ucundaki AG sekansına bağlanır. Böylece splayz düzenlemesi başlar [Chen et al.,2009].

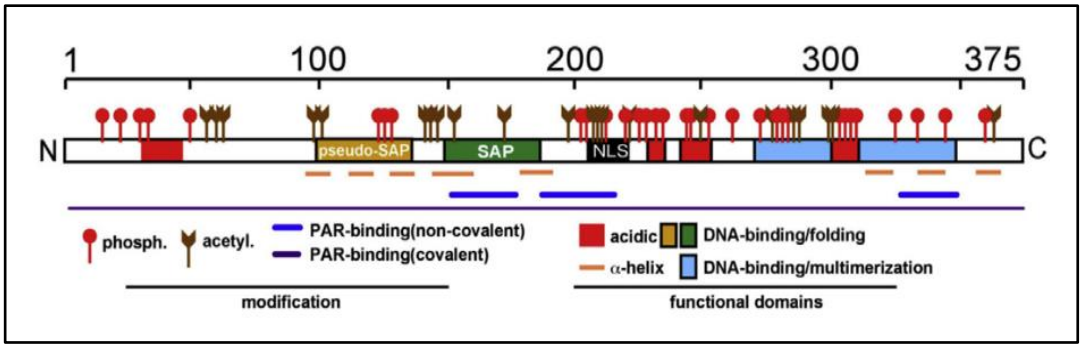
Alternatif kırpılma, birçok onkogenik veya tümör baskılayıcı genin ifadesini düzenleyerek proliferasyon, farklılaşma ve apoptoz sürecinde rol alır [Belluti et al., 2020]. Örneğin trans-etkili SR kırpılma faktörü, kaspaz 2, B hücreli lenfoma (BCL - X), miyeloid hücre lösemi faktörü 1 (MCL-1) gibi genlerin alternatif kırpılma varyantlarının oluşmasını sağlayarak pro-apoptoz ve anti-apoptoz etkileri olan proteinlerin oluşmasına neden olabilir [Lin et al. 2016]. Örneğin, Bcl-x ’in iki farklı alternatif kırpılma ürünü izoformu bulunur: Bcl-xl ve Bcl-xs. Bcl-xl apoptozu inhibe eder ve Bcl-xs ise apoptozu destekler [Kuan et al., 2000]. Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF-A), 8 ekzondan oluşur ve 6, 7 ve 8 numaralı ekzonlardan 5' splayz bölgesi ve alternatif 3' splayz bölgesi kırpılmalarıyla izoformlar üretilir. Bu izoformların ürettikleri proteinler anjiyogenezi kontrol eder. VEGF-A’nın hem anjiyojenik hem de anti-anjiyojenik etkileri vardır. Alternatif splayz faktörleri, VEGF 'nin kırpılmasını düzenleyebilir ve onu bir anti-anjiyojenik VEGF-A165b izoformuna dönüştürebilir. VEGF 'nin kırpılmasıyla oluşan VEGF-A165 izoformu ise bir anjiyogenez faktörü görevi görür [Wagner et al., 2019]. Tüm bu örnekler ele

alındığında alternatif kırpılmanın tümör oluşum şüreçlerindeki rolü dikkat çekmektedir.

2.2. *DEK* Geni ve İzoformları

DEK geni, tam uzunluğu 375 amino asit olan DEK proteinini kodlayan bir proto-onkogendir. Bu genin onkogenez ile ilişkili bir nükleer fosfoprotein olduğu bilinmektedir [Kappes et al., 2001]. DEK, ilk olarak 1992 yılında (6;9) (p23; q34) translokasyonu sonucunda, kromatini düzenleyen *DEK* geni ve nükleoporin kodlayan gen *CAN/NUP214* arasında oluşan füzyon ile tespit edilmiştir [von Lindern et al., 1992].

DEK, kromatine bağlanabilir ve DNA hasar onarımı, DNA replikasyonu mRNA eklenmesi, transkripsiyonel düzenleme, farklılaşma ve apoptoz dahil olmak üzere çeşitli süreçlerde yer alabilir [Kavanaugh et al.,2011], [Alexiadis et al., 2000], [Lin et al., 2014].



Şekil 2.2: DEK'in DNA bağlanmasında yer alan fonksiyonel bölgeleri ve post-translasyonel modifikasyonlarının şekilsel gösterimi.

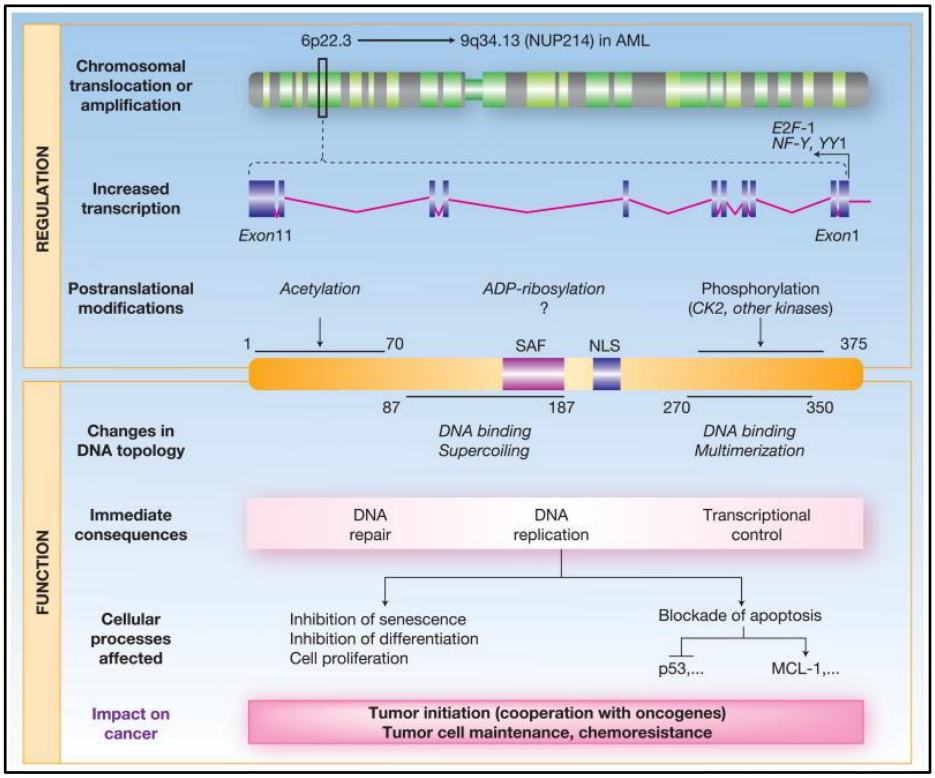
DEK proteini üzerinde DNA bağlanmasında yer alan fonksiyonel bağlanma bölgeleri Şekil 2.2'de gösterilmiştir [de Albuquerque Oliveira et al., 2018]. SAF/SAP (Scaffold Attachment Factor) bölgesi 35 amino asitlik bir bölge olup, DEK'in kromatine bağlanmasından ve DNA'nın süper sarmal yapıya dönüşmesinden sorumludur. Bu bölge DEK 'in merkezinde, 149 ve 183. amino asitler arasında bulunmaktadır [de Albuquerque Oliveira et al., 2018]. Bir diğer DNA bağlayıcı domain olan pseudo-SAP domaini 87-187 amino asitleri arasında bulunur ve DNA'da

süper sarmal yapının oluşumunu teşvik eder [Waldmann et al., 2003]. Nüklear lokalizasyon sinyal (NLS) motifi 205-221 amino asitleri arasında bulunur. 309- 375 amino asitleri arasında yapısal olarak E2F/DP transkripsiyon faktörü ailesine homolog DNA bağlanma bölgesi bulunur. DEK proteininin karboksil terminal bölgesinde 270-350 aminoasitleri arasında multimerizasyondan sorumlu bölge bulunur [Kappes et al., 2004].

DEK proteininin literatürde bilinen iki izoformu bulunmaktadır. Bunlar, DEK-izoform 1 (DEK1) ve DEK-izoform 2'dir (DEK2). DEK1, 375 amino asit uzunluğundadır ve 43 kDa molekül ağırlığa sahip bir izoformdur. Kromozomun 6p22-23 bölgesinde bulunur. DEK1, tam uzunlukta olan bir proteindir. Ancak DEK 2, DNA'nın pozitif süper sarmal aktivitesi için gerekli olan amino asitleri içeren 49-82 aminoasitleri arasındaki kısmı içermeyen kısa izoformudur [Yu et al., 2016]. Literatürde DEK2 ile ilgili sınırlı çalışma bulunmaktadır. İlk olarak mesane kanseri hastası idrar örneğinde saptanmıştır [Datta et al., 2011].

2.2.1. *DEK* Geninin Kanser Türleri ile ilişkisi

DEK 'in akut myeloid lösemi, retinoblastoma, glioblastoma, hepatoselüler karsinom oral skuamöz hücreli karsinom, melanom, mesane kanseri gibi birçok kanserde yüksek oranda ifade edildiği gösterilmiştir [Von Lindern et al., 1992], [Kroes et al.,2000], [Kondoh et al.,1999], [Wise-Draper et al.,2009.], [Nakashima et al.,2017], [Carro et al.,2006], [Evans et al., 2004]. Bu nedenle, *DEK* geninin bir tümör biyobelirteci olduğu düşünülmektedir. DEK proteini, DNA'ya bağlanma afinitesini etkileyen fosforilasyon, asetilasyon veya ADPribosilasyon dahil olmak üzere çeşitli translasyon sonrası modifikasyonlara maruz kalabilir. Bu modifikasyonlarla, DEK hücre proliferasyonu, farklılaşması, yaşlanması ve apoptoz gibi önemli tümör oluşum süreçlerini de etkilediği Şekil 2.3'te gösterilmiştir [Riveiro-Falkenbach and Soengas, 2010].



Şekil 2.3: DEK proteininin ifadesini düzenleyici elementlerin şematik özeti ve bu proteinin DNA bağlama aktivitesi ile ilgili bilinen onkogenik fonksiyonları.

DEK geni birden fazla transkripsiyon faktörü ile kontrol edilmektedir. Bu transkripsiyon faktörlerinden biri E2F transkripsiyon faktörüdür. Sağlıklı hücrelerde DEK promotörü, E2F transkripsiyon faktörleriyle kontrol edildiği için retinoblastoma tümör baskılayıcı protein (pRB) fonksiyonunun doğrudan kontrolü altındadır. HPV E7 proteininin neden olduğu pRB fonksiyonunun kaybı, E2F faktörünün yüksek ifadesine yol açar. Bu durum, DEK'in yüksek ekspresyonunu aktive ederek, artan hücresel proliferasyona ve tümör oluşumuna neden olur [de Albuquerque Oliveira et. al.,2018], [Wise-Draper et al., 2009]. Yapılan başka bir çalışmada, DEK promotörünün transkripsiyon başlama bölgesinde Nükleer Faktör-Y (NF-Y) ve Ying Yang-1 (YY1) transkripsiyon faktörleri için de bağlanma bölgesi içerdiğini göstermiştir. [Sitwala et al., 2002].

DEK 'in, kromatin bütünlüğünü kontrol ettiği ve kromatindeki DNA'nın süperhelikal yoğunluğunu değiştirmek gibi bir dizi biyokimyasal fonksiyon gösterdiği bildirilmiştir [Alexiadis et al.,2000]. Bu fonksiyonlar, p53, Wnt/β-katenin, mTOR, Rho, NF-kβ sinyali ve Vasküler Endotel Büyüme Faktörü (VEGF) gibi önemli yolakların düzenlenmesinde yer alır [Sandén and Gullberg, 2015], [Wise-Draper et

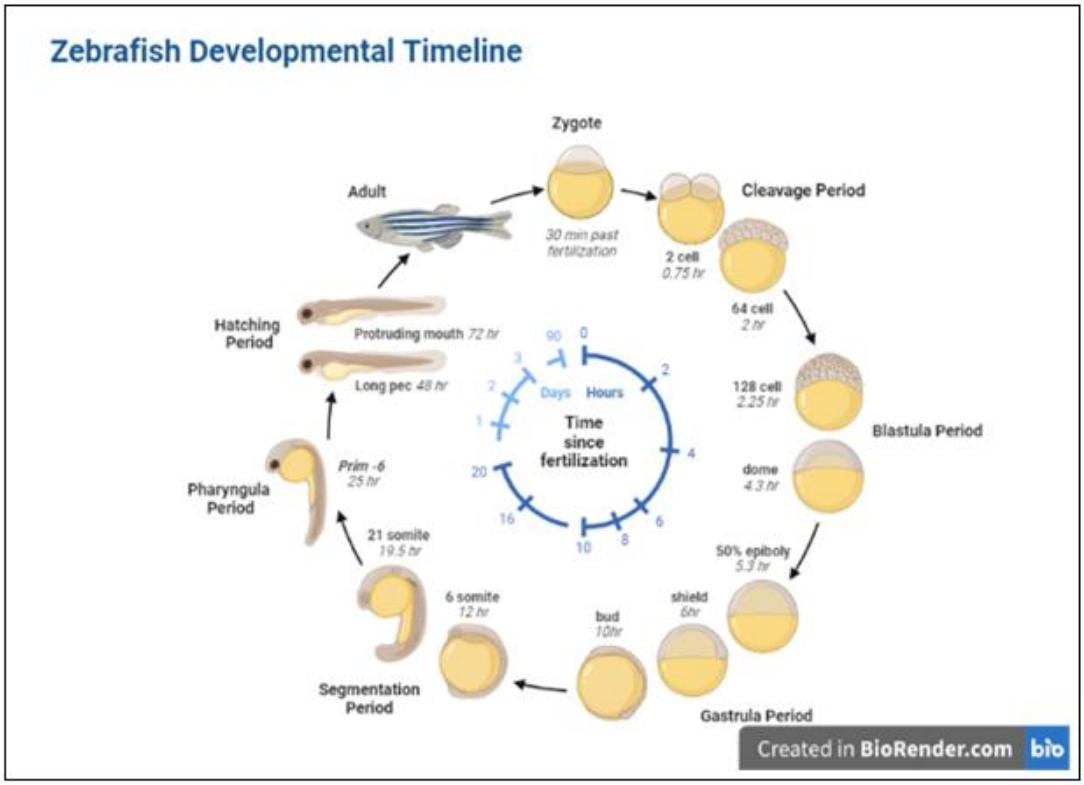
al.,2006]. Bu yolakların, tümör oluşum süreçlerinde de yer alan hücre çoğalması ve hücre göçü gibi olaylarda önemli rolleri bulunmaktadır. Yapılan bir çalışma, DEK-NUP214 füzyon proteininin, akut myeloid lösemi kanserinde mTOR yolağı ile miyeloid hücrelerin proliferasyonunu arttırdığını göstermiştir [Sandén et al.,2013]. DEK'in üçlü negatif meme kanserlerinde (TNBC) PI3K/AKT/mTOR yolunu aktive ederek epitelyal-mezenkimal geçişi (EMT) ve anjiyogenezi teşvik ettiği gösterilmiştir. Aynı çalışma ile DEK 'in düşük ifadesinin meme kanseri hücrelerinin çoğalmasını, göçünü, istilasını ve anjiyogenezini baskıladığı gösterilmiştir [Yang et al.,2017]. Servikal kanser hücrelerinde yapılan çalışmalarda DEK ’in susturulmasının, NF-κB ’nin regülasyonunu arttırarak apoptozu ve yaşlanmayı indüklediği görülmüştür [Liu et al.,2012].

Ayrıca, DEK ifadesi yüksek olan hepatoselüler karsinoma hastalarının DEK ifadesi düşük olanlara oranla daha düşük 5 yıllık hayatta kalma oranına sahip olduğu görülmüştür [Lin and Chen 2013]. Yapılan bir diğer çalışmada, yüksek DEK ifadesi olan erken evre mide kanseri hastalarında hastalıksız sağkalımın düşük olduğu gösterilmiştir [Piao et al., 2014]. Geç evre kolorektal kanser hastalarında yapılan bir çalışmada yüksek DEK ekspresyonlu hastaların düşük DEK ifadesi olanlara göre daha kötü prognoza sahip olduğu görülmüştür [Lin et al.,2013]. Son olarak DEK’in, ölmekte olan hücreler tarafından da salgılanabildiği ve juvenil romatoid artrit (JIA) benzeri otoimmun hastalıklarda anahtar rol oynayabilecek otoimmün antijenlerin oluşumuna yol açabildiği görülmüştür [Mor-Vaknin et al. 2006].

Araştırmalar çoğunlukla DEK1'in kanser gelişimindeki rolünü anlamaya odaklanmıştır. DEK2 ile ilgili sınırlı çalışma bulunmaktadır. DEK2’nin varlığı ilk olarak mesane kanseri hastası idrarında tespit edilmiş ve mesane kanseri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [Datta et al., 2011]. Hepatoselüler karsinomda yapılan diğer bir çalışmada, DEK2'nin yüksek ifadesinin hücre proliferasyonunu arttırdığı, koloni oluşumunu teşvik ettiği ve hücre migrasyonuna neden olduğu görülmüştür [Yu et al., 2016]. Bu bulgular, DEK1 ve DEK2’nin kanser belirteci olarak terapötik yaklaşımlarda önemli rolleri olduğunu ortaya koymaktadır.

2.3. Zebra balığı

İnsan hastalıklarını araştırmak için sinekler, maymunlar ve fareler başta olmak üzere birçok farklı hayvan modeli kullanılmaktadır. Zebra balığı, son zamanlarda biyolojik araştırmalarda kullanılan model organizmalar arasında öne çıkan bir organizmadır. Zebra balığı, latince adıyla *Danio rerio* olarak bilinmektedir. Zebra balığı ilk olarak 1970'lerde George Streisinger tarafından Oregon Üniversitesi'nde biyolojik bir model olarak kullanılmıştır [Khan and Alhewairini, 2018]. Zebra balığı, yüksek doğurganlığa sahiptir, her hafta yüzlerce yumurta üretebilir [Jing and Zon, 2011]. Sadece 4 günlük bir süre içinde embriyo hızla yetişkin zebra balığına dönüşür (Şekil 2.4) [Created with BioRender.com].



Şekil 2.4: Zebra balığı gelişim evrelerinin şekilsel gösterimi.

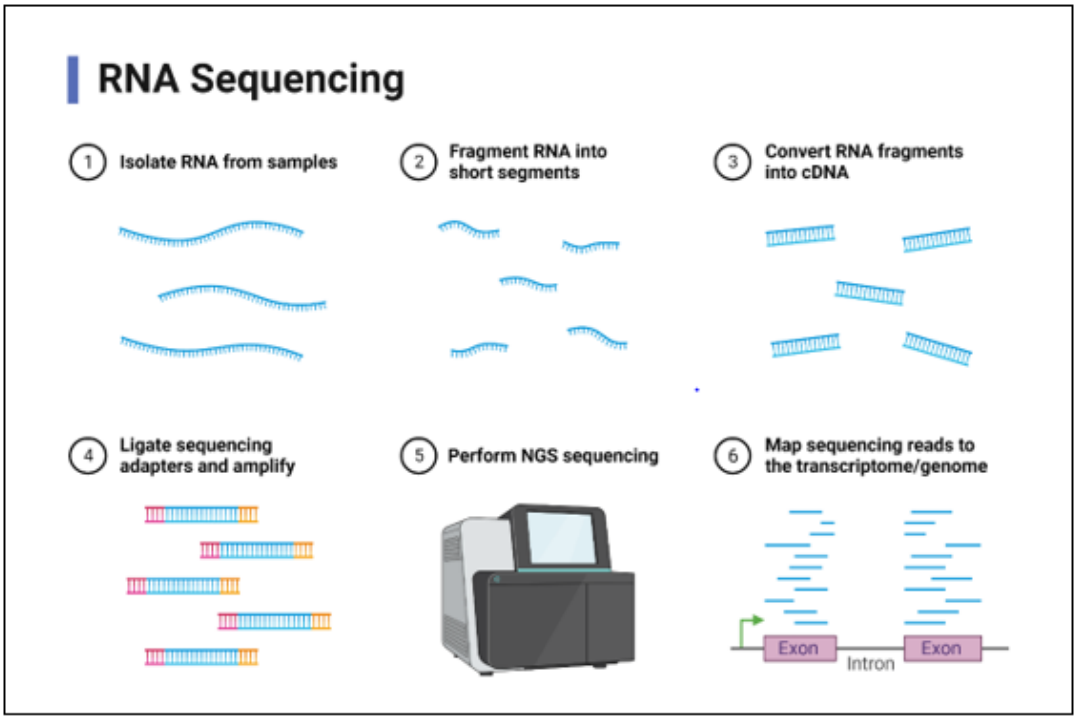
Zebra balığı, beyin, sindirim sistemi, kas yapısı, damar yapısı ve doğuştan gelen bağışıklık sistemi dahil olmak üzere insanlarla birçok fizyolojik ve genetik benzerliğe sahiptir [Zhao et al., 2015]. İnsanlarda hastalıkla ilişkili genlerin yaklaşık %70 'i zebra balıklarında fonksiyonel homologlara sahiptir [Santoriello et al., 2012]. Antitümör

ilaçların geliştirilmesi gibi terapötik uygulamalar için zebra balığında metastaz mekanizmasının gözlenmesi önemlidir [Jing and Zon, 2011]. Zebra balığı, nakledilen kanser hücrelerinin hayatta kalması ve metastazı için çok elverişli bir ortam sağlar. Bu nedenle, zebra balığı modeli anjiyogenez ve rejenerasyon çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır [Haldi et al., 2006]. Zebra balığı modeli, yakın zamanda kutanöz skuamöz hücreli karsinom, baş ve boyun skuamöz hücreli karsinoma yönelik tedavilerin geliştirilmesi için kullanılmıştır [Shin et al., 2016]. Tüm bu örnekler ele alındığında, zebra balığı modeli kanser çalışmalarında önem kazanmaktadır.

2.4. RNA Dizileme Verileri

RNA dizilimi (RNA-Seq), yeni nesil dizilemeyi (NGS) kullanarak bir numunedeki tüm RNA miktarını ve dizilerini inceleyebilen bir tekniktir. RNA dizilimi, bir hücrenin transkriptomuna ilişkin bilgi sağlamak için kullanılır. RNA-seq bize bir hücredeki genlerin transkripsiyon seviyelerinin ne olduğunu, hangi zamanlarda aktif olduklarını veya kapandıklarını söyleyebilir [Ozsolak and Milos, 2011], [Wang et al., 2009]. Bu, bir hücrenin biyolojisinin derinlemesine anlaşılmasına ve hastalığa işaret edebilecek değişikliklerin değerlendirilmesine olanak tanır. RNA-seq tekniği kullanılan uygulamalardan bazıları, transkripsiyonel profil oluşturma, tek nükleotid polimorfizmi (SNP) tanımlama, RNA düzenleme ve diferansiyel gen ekspresyon analizleridir [Bakhtiarizadeh et al., 2020], [Han et al., 2015]. Bu veriler, araştırmacılara genlerin işlevi hakkında kritik bilgiler verebilir.

RT-qPCR, gen ifadesini tespit etmek için faydalı olsa da yalnızca bilinen RNA dizilerini tespit edebilir. Ancak RNA-Seq, gen ifadesini ölçmenin ötesinde, yeni transkriptleri, alternatif olarak eklenmiş izoformları, ek yerlerini, küçük ve kodlayıcı olmayan RNA'ları tanımlayabilir. Ayrıca önceden tasarlanmış problar gerektirmez. [Han et al., 2015]. Sadece birkaç seçilmiş transkripti değil, tam transkriptomu ortaya çıkarır ve referans dizisi mevcut olmasa bile herhangi bir türe uygulanabilir [Rao et al.,2019].



Şekil 2.5: RNA dizileme basamaklarının şekilsel gösterimi

RNA-seq yapılabilmesi için birkaç adım vardır. Bu adımlar Şekil 2.5'te gösterilmiştir [Created with BioRender.com]. Analiz için RNA örneğinizi aldıktan sonra, dizilenecek RNA grubu cDNA fragmanlarına dönüştürülür ve bu işlem ters transkripsiyon ile yapılır. Daha sonra cDNA parçalanır ve parçaların her bir ucuna adaptörler eklenir. Bu adaptörler, amplifikasyon elemanı ve birincil dizileme hazırlama bölgesi gibi dizilemeye izin veren fonksiyonel elemanlar içerir [Bray et al., 2016]. Amplifikasyon, boyut seçimi ve kalite kontrol süreçlerinin ardından cDNA kütüphanesi yeni nesil dizileme (NGS) yöntemiyle analiz edilir. Analizden sonra türetildiği parçanın tamamına veya bir kısmına karşılık gelen kısa diziler üretilir. Sıralama, tek uçlu veya çift uçlu sıralama yöntemlerini takip edebilir. Tek okumalı dizileme, cDNA parçalarını yalnızca bir uçtan dizileme yaptığı için daha ucuz ve daha hızlıdır. Çift uçlu yöntemler her iki uçtan dizileme yapar ve bu nedenle daha pahalıdır [Patro et al., 2017].

RPKM veya TPM ölçüsü bir örnek içi normalleştirme yöntemi olarak tasarlanmıştır. RPKM ve TPM hem kütüphane boyutlarındaki hem de gen uzunluğundaki farklılıkları düzeltmek için gen sayılarını yeniden ölçeklendirdiğinden hem numuneler içinde hem de numuneler arasında transkript seviyelerinin doğru bir şekilde karşılaştırmasını kolaylaştırmak için kullanılmaktadır [Mortazavi et al., 2008].

Formül 1: RPKM veya TPM normalleştirilmesinin formülsel ifadesi.

$$RPKM_i \; or \; TPM_i = \frac{q_i}{\frac{l_i}{10^3} * \frac{\sum_j q_j}{10^6}} = \frac{q_i}{l_i * \sum_j q_j} * 10^9 \qquad (2.1)$$

Bu formülde, q_i işlenmemiş veri veya parça sayısıdır, l_i gen veya transkript uzunluğudur ve $\sum_j q_j$ eşlenen toplam okuma veya parça sayısına karşılık gelir [Trapnell et al.,2010].

2.5. Kanser Genom Atlası (TCGA)

Kanser Genom Atlası (TCGA), 2006 yılında glioblastoma (GBM), skuamöz hücreli akciğer karsinomu (LUSC) ve yumurtalık adenokarsinomuna (OV) odaklanan 3 yıllık bir pilot projeyle başlamıştır. 2015 yılına kadar proje sürdürülmüştür ve 10 yıllık süre sonunda, 33 kanser türünde ve 11.160 hastadan alınan tümörlerin moleküler yapısı karakterize edilmiştir. TCGA, birçok kanser türüne ait genomik, epigenomik, transkriptomik ve proteomik veri içermektedir [Web 1, 2022].

TCGA bilim insanları tarafından kendi çalışmalarını desteklemek ve klinik bir ortamda bireysel hastaların moleküler verilerini yorumlamak için kaynak olarak kullanılmaktadır [Huo et al., 2017], [Verhaak et al., 2010]. TCGA, moleküler anormallikleri ve bunların tümör tipleri arasındaki fonksiyonel rollerini analiz eder. Bu sayede, bir kanser tipinde etkili olan tedavilerin benzer genomik profile sahip diğer kanser türlerinde nasıl kullanılabileceği hakkında da fikirler verir [Web 2, 2022].

TCGA Pan-Kanser Atlas, insanlarda tümörlerin nasıl, nerede ve neden ortaya çıktığına dair kapsamlı analizler içermektedir. Pan-Kanser girişimi, TCGA ’de bulunan tümör tiplerindeki genomik ve hücresel değişiklikler arasındaki benzerlikleri ve farklılıkları inceler. Pan-Kanser Atlas, kanserde üç ana temaya odaklanmaktadır: Kanserin köken aldığı hücre, tümör oluşum süreçleri ve sinyal yolakları. Atlas, tümörleri moleküler benzerliğe ve kanser orijin dokularına göre gruplandıran yeni kümeler içermektedir. Pan-Kanser Atlas, tümör yollarının analizinde, bilim insanları için küresel bir harita sağlamaktadır. Bu harita kombinasyon terapilerin ve kişiselleştirilmiş tıbbın geliştirilmesine yardımcı olmayı amaçlamaktadır [Web 2, 2022].

2.6. Kanser Hücre Hattı Ansiklopedisi (CCLE)

Kanser hücre hatları, kanser biyolojisini incelemek ve kansere yönelik tedaviler geliştirmek için kullanılan en yaygın modellerdir. 2006 yılında Sellers (Novartis), Garraway (Broad Institute) ve Schlegel (Novartis) şirketleri, yaklaşık olarak 1000 kanser hücre hattının genetik karakterizasyonu için Kanser Hücre Hattı Ansiklopedisi (CCLE) projesini başlatmışlardır. Bu projedeki amaçlardan ilki; insan kanser modellerinin genetik ve farmakolojik değerlendirmesini yapmaktır. Ardından bu değerlendirmeleri genetik, gen ifadesi ve hücre hattı modellerine bağlayan entegre analizler geliştirilmesidir. Son olarak, hücre hattı genomik analizlerini kanser hastaları düzeyinde sınıflandırmaktır [Web 3,2022].

CCLE, temelde 3 aşamadan oluşmaktadır. İlk olarak, ATCC (Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu), DSMZ (Alman Mikroorganizmalar ve Hücre Kültürleri Koleksiyonu) ve KCLB (Kore Hücre Hattı Bankası) dahil olmak üzere, veri havuzlarından 1000 farklı hücre hattının verisi elde edilmiştir. Daha sonra, ifade edilen mRNA'ların karakterizasyonu yapılmış, tüm hücre dizilerinin miRNA içeriği karakterize edilmiş, ekzon dizileme yoluyla genetik değişiklikleri karakterize edilmiştir. Ek olarak, anti-kanser terapötik etkilerin değerlendirilmesi için yaklaşık 500 hücre hattında farmakolojik testler yapılmıştır [Web 3 ,2022]. Bu analizler kansere yönelik terapötik çalışmalar yapan bilim insanlarının çalışmalarına yardımcı olmaktadır.

2.7. Gen İfadesi Profilleme Etkileşimli Analizi (GEPIA 2)

Gen İfadesi Profilleme Etkileşimli Analizi (GEPIA) ilk olarak 2017 yılında oluşturulmuştur. GEPIA, TCGA ve Genotip Doku İfadesi (GTEx) veri setlerinin detaylı analizini yapar. RNA-Seq ve transkriptomik analiz için kullanılabilmektedir. GEPIA, gen analizi, korelasyon analizi, hasta sağkalım analizi, benzer gen tespiti dahil olmak üzere birçok veriyi bünyesinde bulundurur [Wang et al., 2009]. Bu analizler de gen fonksiyonlarının bulunması, tedaviler için aday ilaç geliştirilmesi, hastalık sınıflandırması yapılması için kullanılmaktadır [Loven et al., 2012]. GEPIA2, GEPIA ’nın daha geliştirilmiş versiyonudur. GEPIA2, önceki versiyondan farklı olarak belirli bir kanser alt tipinin analizini ve alt tipler arasında karşılaştırma yapılmasına olanak

tanır. Ek olarak, kullanıcıların kendi RNA-seq verilerini platforma yüklemelerini ve bunları TCGA ve GTEx örnekleriyle karşılaştırabilmelerini sağlar [Tang et al., 2019].

2.8. Kaplan-Meier Analizi

Kaplan-Meier sağkalım grafiği, belirli bir zaman aralığında, belirli bir süre boyunca hayatta kalma olasılığını gösterir [Altman et al.,1992]. Sağkalım analizi, kanserin altında yatan nedenleri anlamada ve farklı kanser türleri için tedavi belirlemede kullanılan bir grup istatistiksel yaklaşımı oluşturur [Bewick et al., 2004]. Belirli bir zamanda hayatta kalma olasılığı, aşağıda verilen formülle hesaplanır:

Formül 2: RPKM veya TPM normalleştirilmesinin formülsel ifadesi.

$$S(t) = \prod_{i:t_i \leq t} (1 - \frac{d_i}{n_i}) \qquad (2.2)$$

Bu formülde, t_i en az bir olayın meydana geldiği zamanı temsil eder, d_i ise t_i zamanında meydana gelen ölümlerin sayısını ve n_i ifadesi t_i zamanına kadar hayatta kalan bireylerin sayısını temsil eder [Goel et al., 2010].

Literatürde yapılan çalışmalarda, DEK1 ve DEK2'nin hücre çoğalması, hücre migrasyonu ve koloni oluşumunu teşvik ettiği birçok kanser tipinde gösterilmiştir. Ayrıca DEK' in birçok kanserde yüksek ifadesinin düşük sağkalıma neden olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Ancak bu çalışmalar çevrimiçi veri setleri incelenerek desteklenmemiştir. Bu çalışma laboratuvarımızda yapılan çalışmaların devamı niteliğindedir [Özçelik et al., 2022]. Bu tez çalışmasında, DEK'in DEK1 ve DEK2 izoformlarının ifadeleri farklı kanser türü verilerinde bir grup istatistiksel ve çevrimiçi araç kullanılarak karşılaştırılmış ve bu proteinlerin hasta sağkalımına olan etkileri incelenmiştir. Ayrıca, DEK1 ve DEK2 izoformlarının ifadeleri ile pozitif korelasyon gösteren genler ve bu genlerin dahil olduğu sinyal yolakları bulunmuştur. Ek olarak, kanser çalışmalarında sıklıkla kullanılan zebra balığına DEK genine özgü primerler tasarlanmış ve zebra balığında bu genin ifadesine bakılmıştır.

3. MATERYAL

Tablo 3.1: Laboratuvar Malzemeleri ve Kitleri.

Ürün adı	**Katalog numarası**	**Firma**
EtOH	B2221	Sigma-Aldrich
Chloroform	24216	Sigma-Aldrich
QIAzol Lysis Reagent	79306	Qiagen
Nuclease Free Water	SH30538.01	HyClone
LightCycler 480 SYBR Green I Master	4887352001	Roche
OneScript Plus cDNA Synthesis Kit	G236	Abm

Tablo 3.2: Zebra Balığı RT-qPCR Primerleri.

Gen adı	**Sekans**	**Tür**
DEK primer set 1	F: 5'-CGTCTAAACCCAAAGTCAAA-3' R: 5'- TGTGTGGCTTTTTGCTCTTG-3'	*Danio rerio*
DEK primer set 2	F: 5' GCAGCAACCGAAAGAAAAAG -3' R**:** 5'- TTTCTGCTGCTCAGATCGAA -3'	*Danio rerio*
actb2	F: 5'-GCCTGACGGACAGGTCAT-3' R: 5'- ACCGCAAGATTCCATACCC-3'	*Danio rerio*

Tablo 3.3: Laboratuvar Ekipmanları.

Ekipman	**Deneysel Prosedür**	**Firma**
NanoDrop ND-1000	DNA & RNA quantification	Thermo Scientific
PCR Thermal Cycler 2720	cDNA synthesis	Applied Biosystems
LightCycler 480 Instrument	RT-qPCR	Roche

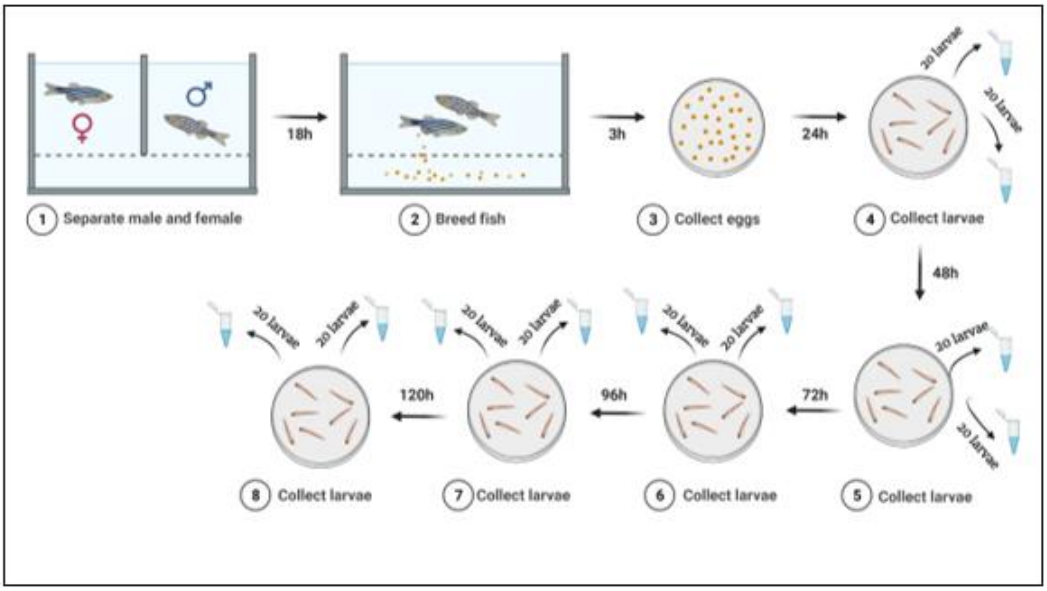
Tablo 3.4: Solüsyonlar ve Tamponlar.

Kimyasal	**Miktar**	**Firma-Katalog numarası**
NaCl	17.2 gr	Sigma-Aldrich, 13423
KCl	0.76 gr	Sigma-Aldrich, 12636
CaCl2.2H2O	2.9 gr	Carlo Erba, 327607
MgSO4.7H2O	4.9 gr	Sigma-Aldrich, M2773

4. METOT

4.1. Zebra Balığı Örneklerinin Toplanması

Bu tez çalışmasında, Bilkent Üniversitesi Zebra Balığı Tesisi' nden temin edilen yabanıl tip zebra balıklarının çiftleştirilmesiyle üretilen zebra balığı embriyoları kullanılmıştır. Bilimsel amaçlar için kullanılan hayvanların korunmasına ilişkin AB Direktifi 2010/63/EU kurallarına göre hareket edilmiştir [Strähle et al., 2012]. Öncelikle olgun erkek ve dişi zebra balıkları hava kararmadan önce aralarında cam engel olan iki bölmeli eşleştirme tanklarına yerleştirildi. Yaklaşık 18 saat sonra aralarındaki cam kaldırıldı. Tankın alt kısmında biriken embriyolar 3 saat sonra eşleştirme tanklarının altında bulunan bölmeden süzgeç yardımıyla toplandı. Daha sonra petriye alındı ve 1X E3 besiyeri içerisinde 33°C sıcaklıkta inkübasyona bırakıldı. 24, 48, 72, 96 ve 120. saatlerde her tüpte 20' şer zebra balığı embriyosu olacak şekilde 1.5 ml'lik test tüplerinde toplandı. Tüplere alınan örneklerin 10 saniye süreyle sıvı nitrojende bekletilerek ani donması sağlandı ve daha sonra kullanılmak üzere -80°C'ye kaldırıldı. Zebra balığı örneklerinin toplanması Şekil 4.1'de gösterilmiştir [Created with BioRender.com].



Şekil 4.1: Zebra balığı örneklerinin toplanmasının şekilsel gösterimi.

4.2. TRIZOL ile RNA İzolasyonu

RNA izole etmek için -80˚C' de saklanan zebra balığı embriyo örnekleri buz üzerinde çözündü. Embriyolar +4 ˚C'de soğutulan 1 ml PBS ile yıkandı ve tüplerde bulunan embriyolar 600 µl TRIZOL kullanılarak çözüldü. Sonrasında tüplerin üzerine 120 µl kloroform eklendi. Yaklaşık 15 kez alt-üst yapılarak karıştırıldı ve 10 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. 20 dakika +4 ˚C' de 13000 rpm'de santrifüj yapıldı ve santrifüjden sonra en üst katmandan yaklaşık 300 µl şeffaf faz yeni tüplere aktarıldı. Toplanan üst sıvı ile aynı hacimde isopropanol eklenerek 3 kez alt üst yapıldı ve oda koşullarında 10 dakika inkübasyona bırakıldı. Ardından 20 dakika +4 ˚C' de 13000 rpm hızında santrifüj edilen örneklerdeki süpernatant uzaklaştırıldı ve pellet önce 1 ml 75% EtOH, sonra da 1 ml 100% EtOH ile yıkandı. Tekrar 20 dakika +4 ˚C' de 13000 rpm hızında santrifüj edilen örneklerin üzerindeki süpernatant uzaklaştırıldı ve pelet 30 dakika kurumaya bırakıldı. Kurutma sonrası pellet 20 µl RNase içermeyen su ile çözülerek nanodrop ile konsantrasyonu ölçüldü. Örnekler daha sonra kullanılmak üzere -80 ˚C' de saklandı.

4.2.1. cDNA Sentezi

cDNA sentezi için OneScript Plus cDNA Synthesis Kiti ve üretici firma tarafından önerilen protokol kullanıldı. Kısaca, 4µl 5X reaksiyon tamponu, 1 µl 10nM dNTP, 1 µl Reverse Transkriptaz enzimi, 1 µl oligo (dT) primerler ve 1000 ng RNA numunesi kullanılarak hazırlanan karışıma nükleaz içermeyen su eklenerek toplamda 20 µl hacim elde edildi. Reaksiyon sonrasında elde edilen cDNA 'lar 1:20 oranında sulandırıldı ve daha sonra kullanılmak üzere -20 ˚C'de saklandı. cDNA sentez reaksiyonu için kullanılan parametreler Tablo 4.2'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1: cDNA sentez reaksiyon devirleri için kullanılan parametreler.

Döngü	**Adımlar**	**Döngü süresi**	**Sıcaklık**
1	İlk inkübasyon	15 dakika	95°C
50	Denatürasyon	15-30 saniye	95°C
	Tutunma	30 saniye	58°C
	Uzatma	30 saniye	72°C
1	Soğuma	30 saniye	+4°C

4.2.2. RT-qPCR

Zebra balığı örneklerindeki *DEK* mRNA seviyesini belirlemek için RT- qPCR yapıldı. İlk olarak, her gen için RT-qPCR reaksiyon karışımı hazırlandı. Bu amaçla, 2 µl cDNA, 10 µM gene özgü forward ve reverse primer (l µl her birinden), 8,5 µl nükleaz içermeyen H_2O ve 12,5 µl RealQ Plus 2x master mix SYBR Green I 1.5 ml'lik test tüpüne eklendi. Daha sonra, her grup için iki tekrar olacak şekilde 96 kuyulu plakaya örnekler eklendi. *Actb2,* iç kontrol geni (housekeeping) olarak kullanıldı. 96 kuyulu plakaların üzeri kaplandı ve 1000 rpm hızında 2 dakika santrifüj yapıldı. Ardından örnekler cihaza yerleştirildi. Kullanılan reaksiyon adımları Tablo 4.2'de gösterilmiştir. Ekspresyon (-ΔΔCt) seviyelerinin hesaplanması için, her bir genin ifadesi, referans gen olarak kullanılan actb2'nin ifade değerlerine göre normalleştirildi. $2^{[-\Delta\Delta Ct]}$ formülü kullanılarak gen ifadelerindeki değişim kat artış veya kat azalış şeklinde hesaplandı. İstatistiksel analizler GraphPad Prism (versiyon 9.3.1) kullanılarak yapıldı.

Tablo 4.2: qPCR reaksiyon devirleri için kullanılan parametreler.

Döngü	**Adımlar**	**Döngü süresi**	**Sıcaklık**
1	İlk inkübasyon	15 dakika	95 ˚C
50	Denatürasyon	15-30 saniye	95 ˚C
	Tutunma	30 saniye	54˚C
	Uzatma	30 saniye	72 ˚C
1	Soğuma	30 saniye	+4 ˚C

4.3. Veri Toplama

Ensembl (https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/) zebra balığı DEK protein sekansı ve insan DEK proteini sekansı fasta formatında elde edilip clustal omega (https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/) çevrim içi aracı kullanılarak homolog hizalanması yapıldı.

TCGA, 11.000'den fazla hastadan alınan 33 kanser türünün primer tümör doku verileri ile normal doku verilerini eşleştiren bir kanser genomik aracıdır (Web 1,2022). TCGA çevrim içi aracı, primer tümör doku ve normal doku RNA-seq verilerini elde etmek için kullanıldı.

UCSC Xena Browser, primer tümör doku ve normal doku arasındaki gen ifadelerinin farlılıklarını ve bu farklılıkların kanser oluşumundaki rolünün anlaşılmasına olanak sağlayan veri setlerini bünyesinde bulundurur (Web 4,2022). TCGA-Pan- Kanser (TCGA PANCAN) TOIL RSEM TPM RNA-seq veri seti dosyalarını indirmek için UCSC Xena browser (https://xenabrowser.net/) çevrim içi aracı kullanıldı. DEK1 (ENST00000397239.3) ve DEK2 (ENST00000244776.7) mRNA ifadelerini içeren TCGA-Pan-Kanser primer tümör doku ve normal doku verileri TSV dosyası şeklinde indirildi. TCGA-Pan-Kanser datasından analiz için farklı kanser türlerine ait veri kümeleri seçildi. Karaciğer hepatosellüler karsinomu (LIHC), kolon adenokarsinomu (COAD) ve akciğer adenokarsinomu (LUAD),

skuamöz hücreli akciğer karsinomu (LUSC), böbrek kromofob hücreli karsinom (KICH), böbrek renal berrak hücreli karsinom (KIRC), böbrek renal papiller hücreli karsinomu (KIRP), tiroid karsinomu (THCA), prostat adenokarsinomu (PRAD) ve yumurtalık kanseri (OV) RNA-seq verileri elde edildi. TCGA verileri elde edilerek R (versiyon 4.1.3) programı ile verilerin analizleri yapıldı.

Kanser Hücre Hattı Kütüphanesi (CCLE) (https://sites.broadinstitute.org/ccle/), 1000'den fazla kanser hücre hattının genomik verilerine erişim sağlar (Web 3, 2022). CCLE, kanser hücre hattı RNA-seq veri dosyalarını indirmek için kullanıldı. DEK1 (ENST00000397239.3) ve DEK2 (ENST00000244776.7) mRNA ifadelerinin korelasyon analizleri için CCLE verileri elde edildikten sonra verilerin analizleri R (versiyon 4.1.3) programı ile yapıldı.

Gen İfadesi Profilleme Etkileşimli Analiz (GEPIA2) (http://gepia2.cancer-pku.cn) aracı, TCGA ve GTEx projelerinden primer tümör doku ve normal doku örneklerinin RNA-seq verilerini analiz etmek için kullanılan çevrimiçi bir araçtır [Tang et al.,2014] .GEPIA2 aracı, tümör/normal örneklerinde gen ifadesi analizi, hasta sağkalım analizi, benzer gen tespiti, korelasyon analizi gibi konularda çalışmalara katkı sağlamaktadır. GEPIA2 aracı kullanılarak TCGA Pan-Kanser primer tümör doku örneklerinde DEK1 ve DEK2 gen ifadesi ile benzer ifade gösteren genleri bulmak ve kanser türlerinde sağkalım analizlerini gösteren Kaplan-Meier (K-M) grafiklerini elde etmek için kullanıldı. DEK1 ve DEK2 ifadesi ile benzer ifade gösteren genleri içeren sinyal yolaklarını incelemek için fonksiyonel protein ilişkilendirme ağları (STRING) ve Reactome sinyal yolağı veritabanı kullanıldı.

4.4. Veri Analizi ve Yorumlanması

R programlama dili, verileri analiz edip, görselleştirmek için kullanılan bir programlama dilidir. Çalışmamızda R programlama dili, gen ekspresyon verilerinin analiz adımlarını gerçekleştirmek için kullanıldı. CCLE, kullanılarak elde edilen dosyada *DEK* geni Ensembl kodu (ENSG00000124795) ile eşleşen satırlar bulundu. R'da bulunan "data.table" paketi verileri tabloya dönüştürmek için kullanıldı. Verilerden grafik yapmak için "ggpubr" paketi kullanıldı. DEK1 (ENST00000397239.3) ve DEK2 (ENST00000244776.7) mRNA ifadelerinin x ve y düzleminde korelasyonlarını gösteren grafik "ggscatter" paketi kullanılarak elde

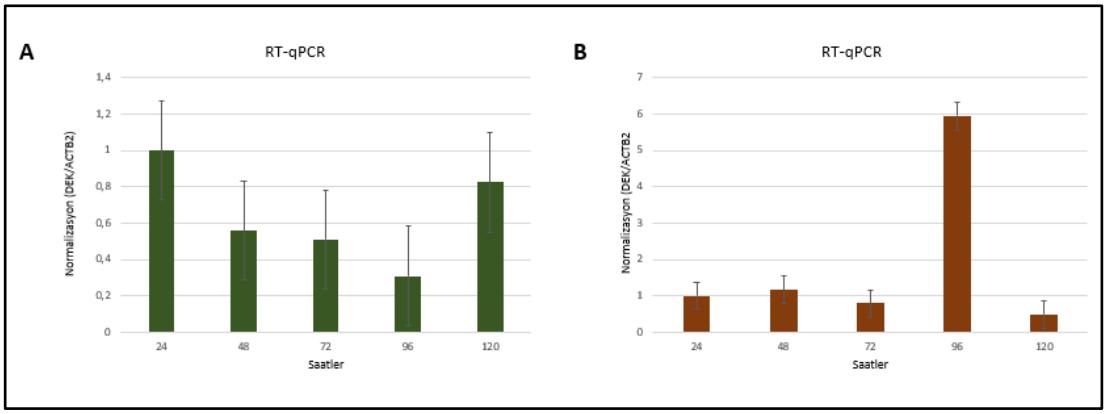
edildi. Verilere “stat_cor” fonksiyonu kullanılarak pearson testi yapıldı. Verilerin log2 değerleri “scale_y_continuous” fonksiyonu kullanılarak alındı.

TCGA Pan-Kanser RNA-seq verilerinin analizleri R programı ile yapıldı. Çalıştığımız kanserlerde primer tümör doku ve normal dokuda DEK1 ve DEK2 mRNA ifadeleri ile alt kümeler oluşturuldu. Verilerden grafik yapmak için “ggplot2” paketi kullanıldı. Düzenli veriler oluşturmak için “tidyr” paketi kullanıldı. Primer tümör doku ve normal dokuda DEK1 ve DEK2 mRNA ifadelerinin ortalamalarının karşılaştırılması “stat_compare_means” fonksiyonu ile yapıldı. Bütün kanserlerin grafikleri tek bir grafikte “ggbeeswarm” paketi ile birleştirildi. Birden çok çizimi bir sayfada düzenlemek ve tablo haline getirmek için " gridExtra " kullanıldı.

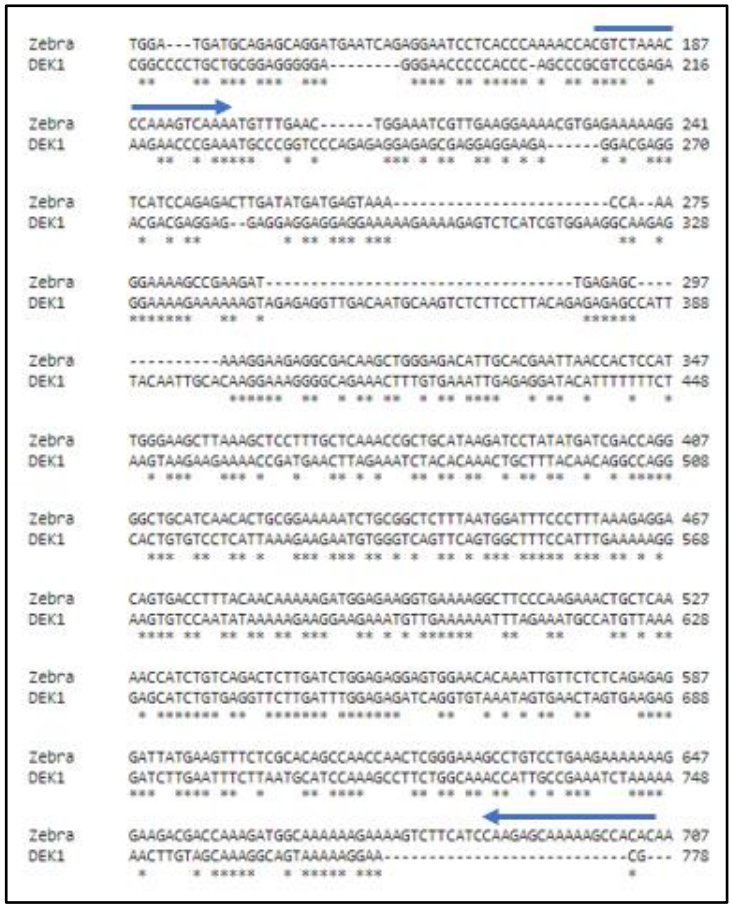
5. BULGULAR

5.1. Zebra balığında DEK mRNA İfadesinin Belirlenmesi

Zebra balığında (*Danio rerio) DEK* mRNA ifadesinin belirlenebilmesi için yürütülen bu çalışmada, Bilkent Üniversitesi Zebra Balığı Tesisi' nden temin edilen yabanıl tip zebra balıkları kullanılmıştır. *DEK* geninin ifade seviyesini belirlemek için zebra balığının total RNA'sı izole edildi. Elde edilen RNA'lar kullanılarak RT-qPCR yapıldı. *DEK* geninin ifadesinin normalize edilmesi için, daha önce literatürde zebra balığı çalışmalarında kullanılmış olan *Actb2* housekeeping geni referans olarak kullanıldı. Normalize edilmiş *DEK* ekspresyon değerlerinin (*DEK/Actb2*) grafikleri Şekil 5.1 'de görülmektedir**.** Analize göre, primer set 1 ile yapılan RT-qPCR sonucunda 24. saatte toplanan örnekler ile karşılaştırıldığında, 48, 72, 96 ve 120. saatlerde toplanan örneklerde *DEK* mRNA ifadesinin azaldığı tespit edildi. Ayrıca, primer set 2 ile yapılan RT-qPCR analizi sonucunda 96. saatte toplanan örneklerde 24. saatte toplanan örneklere göre 5 katın üzerinde artış olduğu görüldü. 24, 48, 72, 96 ve 120. saatlerde toplanan örneklerden elde edilen gen ifadelerinin istatiksel analizlerine bakıldığında farklı günler arasında anlamlı bir fark görülmedi (Şekil 5.1). Sonuçlar üzerinde Two-way ANOVA/Tukey istatistik analizi ile test edildi. İstatiksel analizler için GraphPad Prism (versiyon 9.3.1) kullanıldı. Zebra balığında yapılan RT-qPCR sonucunda primer setlerinin çoğalttığı zebra balığı DEK mRNA'sı Şekil 5.2 ve Şekil 5.3'te gösterilmektedir. Zebra balığında yapılan RT-qPCR sonucunda primer setlerinin çoğalttığı zebra balığı DEK protein dizisi Şekil 5.2 ve Şekil 5.3'te gösterilmektedir.

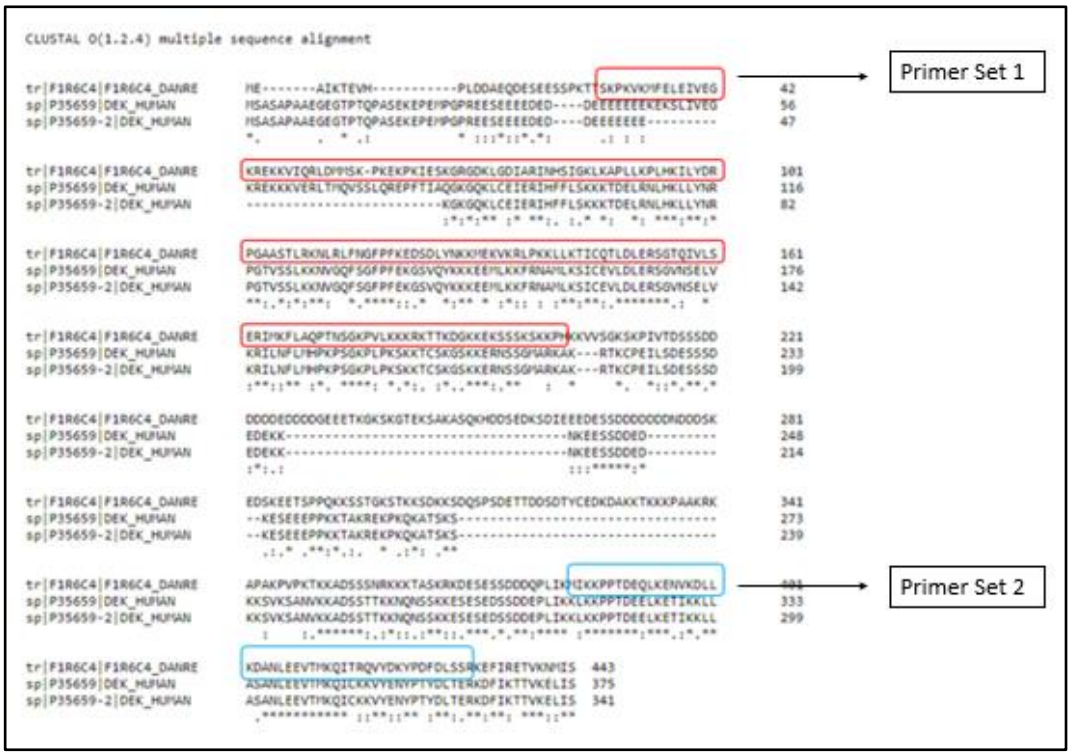


Şekil 5.1: RT-qPCR sonuçlarının *Actb2* referans geni ile normalize edilmiş RT-qPCR sonuçları Two-way ANOVA/Tukey istatistik analizi. P >0.05, istatiksel olarak anlamsız kabul edilir. a) *DEK* primer set 1 ile, b) *DEK* primer set 2 ile gerçekleştirilmiş RT-qPCR sonuçları.



Şekil 5.2: Zebra balığında yapılan RT-qPCR sonucunda primer set 1'in çoğalttığı zebra balığı DEK mRNA ve insan DEK mRNA sekansının homolog hizalanmasının şematik gösterimi. * tamamen korunmuş özelliklere sahip grupları gösterir.

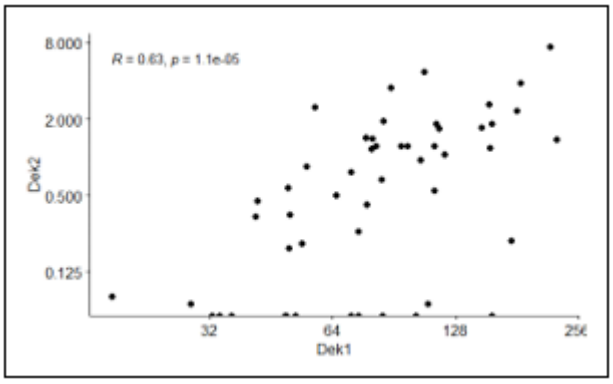
Şekil 5.3: Zebra balığında yapılan RT-qPCR sonucunda primer set 2'in çoğalttığı zebra balığı DEK mRNA ve insan DEK mRNA sekansının homolog hizalanmasının şematik gösterimi. * tamamen korunmuş özelliklere sahip grupları gösterir.



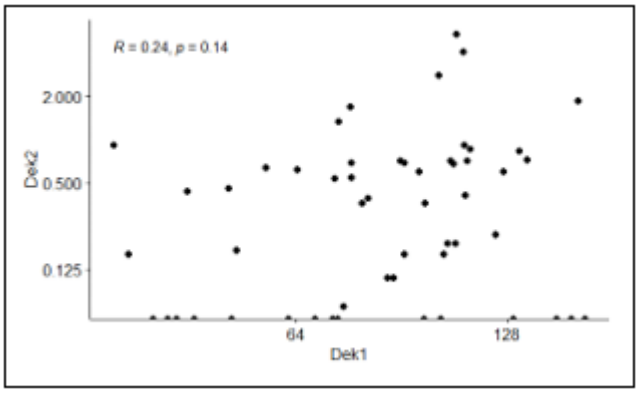
Şekil 5.4: Zebra balığında yapılan RT-qPCR sonucunda primer setlerinin çoğalttığı zebra balığı DEK protein sekansının şematik gösterimi. * , tamamen korunmuş ve : ise benzer özelliklere sahip grupları gösterir.

5.2. Kanser Hücre Hattı Kütüphanesi (CCLE) Verileri Kullanılarak DEK1 ve DEK2 mRNA İfadelerinin Korelasyon Analizi

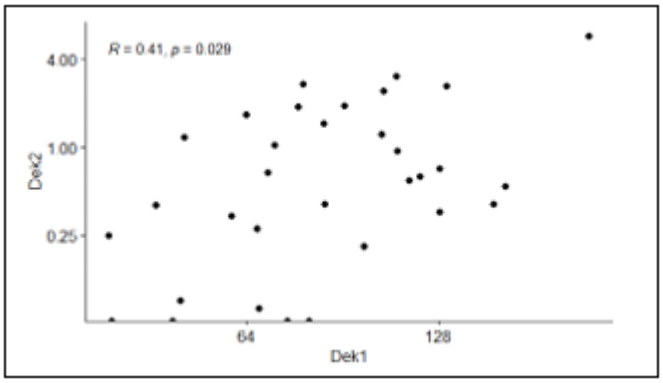
DEK1 ve DEK2 mRNA ifadelerinin kanser hücre hatlarında korelasyon göstermekte olup olmadığının analizi için Kanser Hücre Hattı Kütüphanesi'nden (CCLE) veriler elde edildi. R (versiyon 4.1.3) programı kullanılarak Pearson korelasyon analizi yapıldı. Bu analiz ile göğüs kanseri, böbrek kanseri, akciğer kanseri, yumurtalık kanseri, tiroit kanseri hücre hatlarında DEK1 ve DEK2 mRNA ifadelerinde pozitif korelasyon görüldü (Şekil 5.5, 5.7, 5.9, 5.10, 5.12). Kolon kanseri, karaciğer kanseri, prostat kanseri hücre hatlarında ise DEK1 (ENST00000397239.3) ve DEK2 (ENST00000244776.7) mRNA ifadelerinde korelasyon görülmedi (Şekil 5.6, 5.8, 5.11).



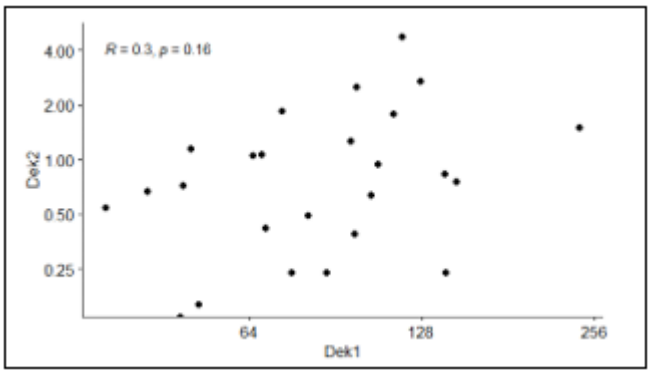
Şekil 5.5: CCLE verisinden elde edilmiş göğüs kanseri hücre hatlarında DEK1 ve DEK2 mRNA ifadelerinin $\log_2$ tabanında korelasyon grafiği. $P < 0.05$, istatiksel olarak anlamlı kabul edilir.



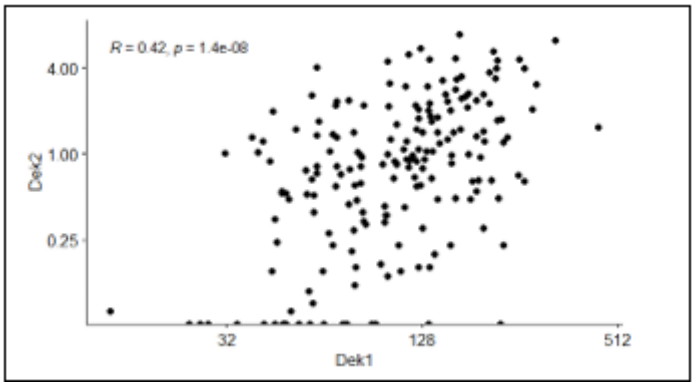
Şekil 5.6: CCLE verisinden elde edilmiş kolon kanseri hücre hatlarında DEK1 ve DEK2 mRNA ifadelerinin log_2 tabanında korelasyon grafiği. P <0.05, istatiksel olarak anlamlı kabul edilir.



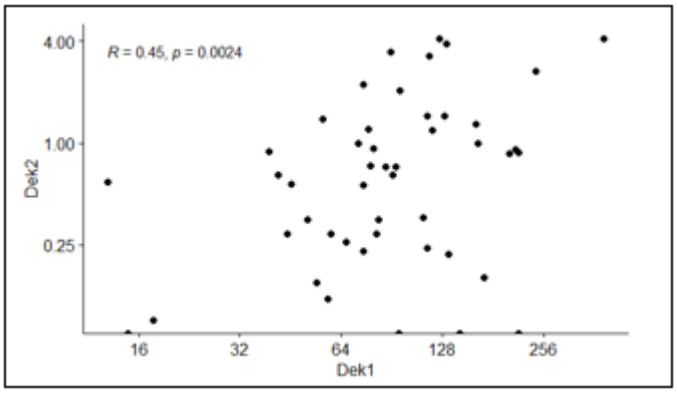
Şekil 5.7: CCLE verisinden elde edilmiş böbrek kanseri hücre hatlarında DEK1 ve DEK2 mRNA ifadelerinin log_2 tabanında korelasyon grafiği. P <0.05, istatiksel olarak anlamlı kabul edilir.



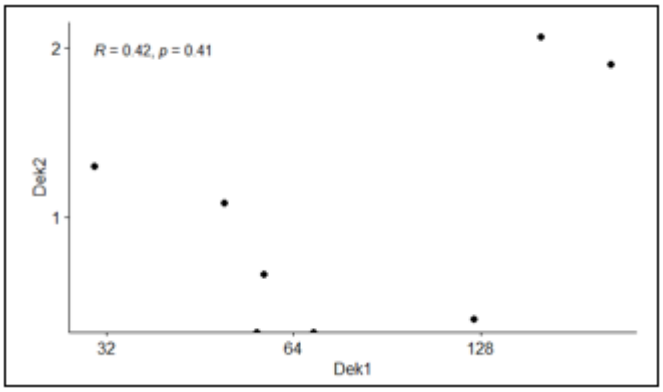
Şekil 5.8: CCLE verisinden elde edilmiş karaciğer kanseri hücre hatlarında DEK1 ve DEK2 mRNA ifadelerinin log_2 tabanında korelasyon grafiği. P <0.05, istatiksel olarak anlamlı kabul edilir.



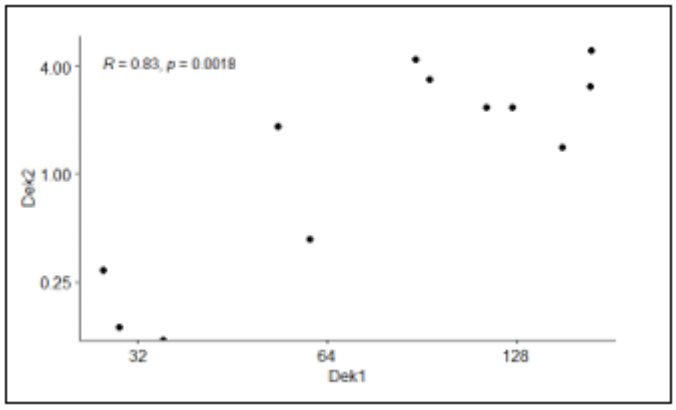
Şekil 5.9: CCLE verisinden elde edilmiş akciğer kanseri hücre hatlarında DEK1 ve DEK2 mRNA ifadelerinin log_2 tabanında korelasyon grafiği. P <0.05, istatiksel olarak anlamlı kabul edilir.



Şekil 5.10: CCLE verisinden elde edilmiş yumurtalık kanseri hücre hatlarında DEK1 ve DEK2 mRNA ifadelerinin log_2 tabanında korelasyon grafiği. P <0.05, istatiksel olarak anlamlı kabul edilir.



Şekil 5.11: CCLE verisinden elde edilmiş prostat kanseri hücre hatlarında DEK1 ve DEK2 mRNA ifadelerinin log_2 tabanında korelasyon grafiği. P <0.05, istatiksel olarak anlamlı kabul edilir.

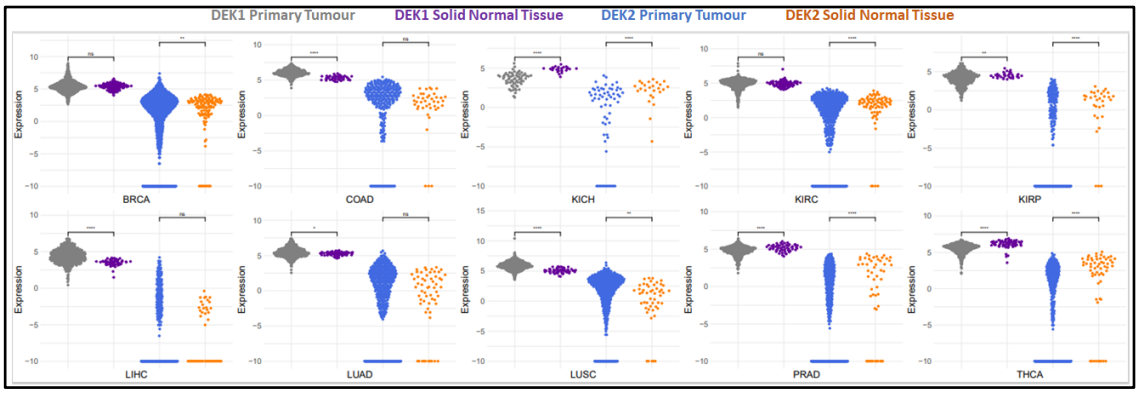


Şekil 5.12: CCLE verisinden elde edilmiş tiroit kanseri hücre hatlarında DEK1 ve DEK2 mRNA ifadelerinin log_2 tabanında korelasyon grafiği. P <0.05, istatiksel olarak anlamlı kabul edilir.

5.3. TCGA Verileri Kullanılarak DEK1 ve DEK2 mRNA İfadelerinin Primer Tümör ve Normal Dokularda Karşılaştırılması

Göğüs kanseri (BRCA), kolon adenokarsinomu (COAD), böbrek kromofob hücreli karsinomu (KICH) , böbrek renal berrak hücreli karsinomu (KIRC), böbrek papiller renal hücreli karsinomu (KIRP), karaciğer hepatosellüler karsinomu (LIHC), akciğer adenokarsinomu (LUAD), akciğer skuamöz hücreli karsinomu (LUSC), yumurtalık kanseri (OV), prostat adenokarsinomu (PRAD) ve tiroid karsinomu (THCA) primer tümör ve normal dokularında DEK1 ve DEK2 mRNA ifadelerini karşılaştırmak için TCGA verileri kullanıldı. Elde edilen verilerin analizleri R (versiyon 4.1.3) programı ile yapıldı. LIHC, LUSC, LUAD, COAD, KICH primer tümör dokularındaki DEK1 mRNA ifadesinin normal dokulara oranla önemli ölçüde yüksek ifade edildiği görüldü. Ek olarak, BRCA ve KIRC, DEK1 mRNA ifadeleri verilerinde istatiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü (Şekil 5.13).

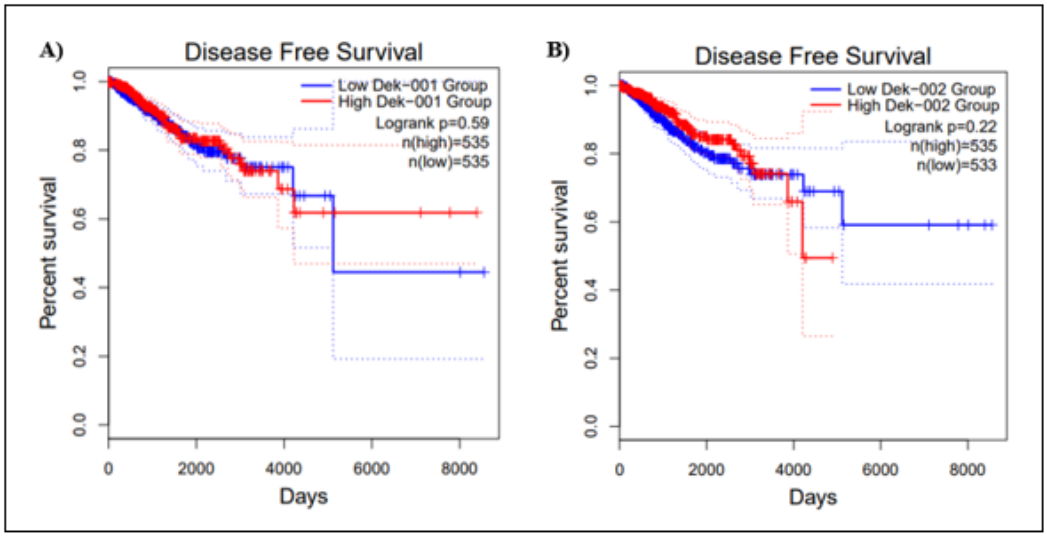
BRCA, KIRC, KIRP, KICH, PRAD ve THCA normal dokularında DEK2 mRNA ifadesinin primer tümör dokulara oranla istatiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü. Ancak LUSC primer tümör dokularında DEK2 mRNA ekspresyonunun normal dokulara oranla istatiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü. Ek olarak, LIHC, COAD ve LUAD DEK2 mRNA ifadesinde verilerinde istatiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü (Şekil 5.13).



Şekil 5.13: TCGA primer tümör dokusu verileri ve normal doku verileri DEK1 ve DEK2 ekspresyon farkı grafiği. Mann-Whitnet U testi uygulanmıştır, *P <0.05, **P <0.01, ***P < 0.001.

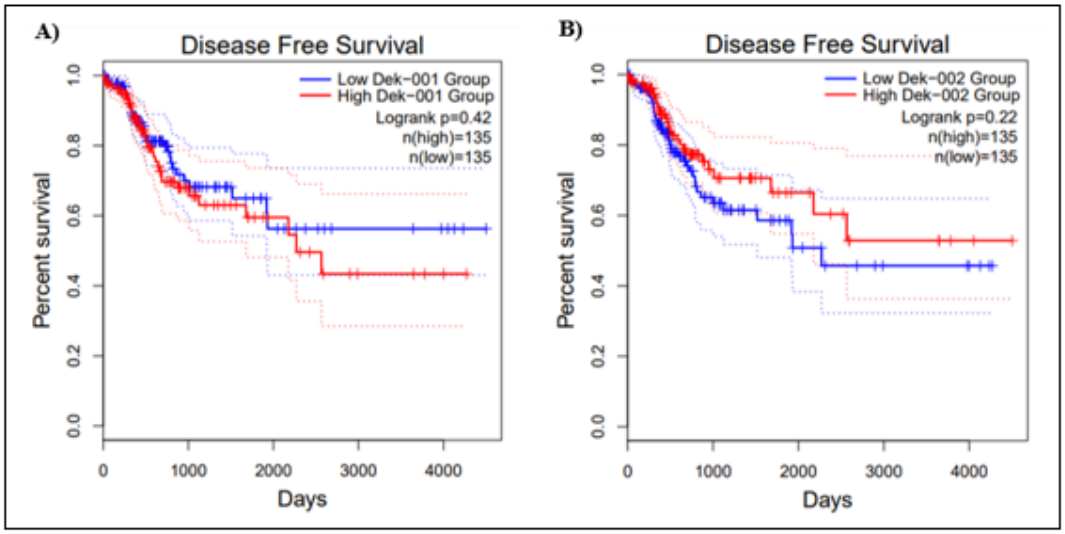
5.4 TCGA Verileri Kullanılarak Primer Tümör Dokularda Yüksek ve Düşük DEK1 ve DEK2 mRNA İfadelerinin Sağkalıma Etkisinin Analizi

BRCA hastalarında, hastalıksız sağkalım (disease free survival) oranları için K-M grafiğine bakıldığında DEK1'in ve DEK2'nin medyan ifadesinden daha yüksek veya daha düşük ifadelere sahip olduğu örnekler arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi (p> 0.05) (Şekil 5.14).



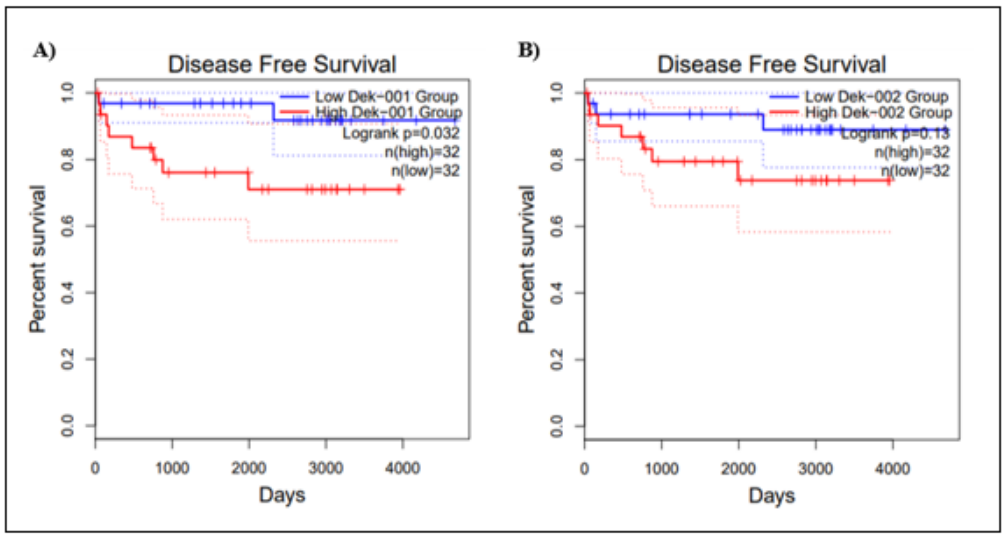
Şekil 5.14: TCGA verilerine göre, göğüs kanserinde (BRCA), *DEK* gen ifadesine bağlı hastalıksız sağkalımı gösteren K-M grafiği**.** A) BRCA' da DEK1'in yüksek ve düşük ifadelerinde sağkalım grafiği. B) DEK2'nin yüksek ve düşük ifadelerinde BRCA hastalarının sağkalım grafiği. Mavi eğri, DEK için medyandan daha az ifadeye sahip numuneler (n = 535) için sağkalım oranını gösterirken, kırmızı eğri, genin medyan ifadesine eşit veya bundan daha fazla olan numuneler (n=535) için sağkalımı gösterir.

COAD hastalarında, hastalıksız sağkalım oranları için K-M grafiğine bakıldığında ise DEK1 ve DEK2'nin medyan ifadesinden daha yüksek veya daha düşük ifadelere sahip olduğu örnekler arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p > 0.05$) (Şekil 5.15).



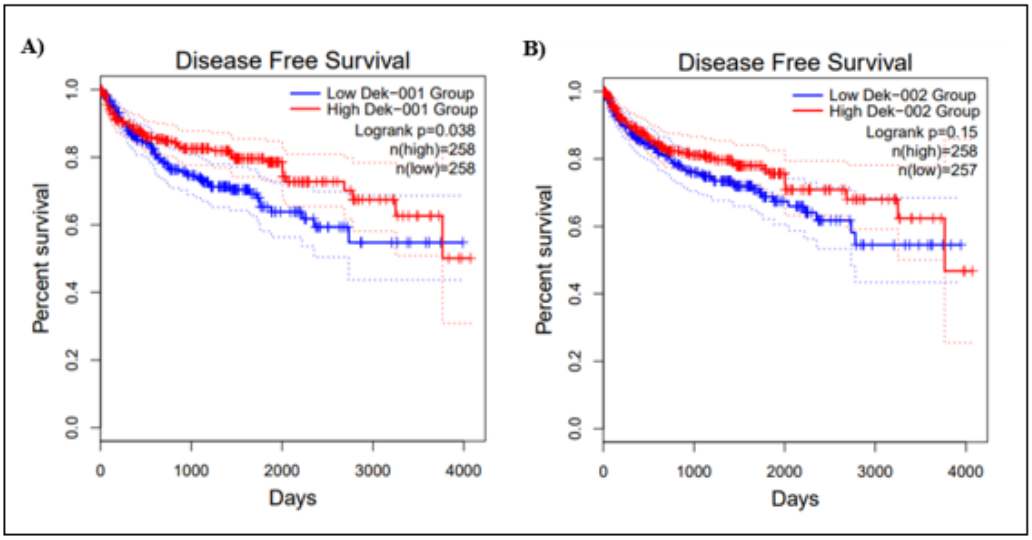
Şekil 5.15: TCGA verilerine göre, kolon adenokarsinomunda (COAD), *DEK* gen ifadesine bağlı sağkalımını gösteren K-M grafiği**.** A) DEK1'in yüksek ve düşük ifadelerinde kolon adenokarsinomunda (COAD), sağkalım grafiği B) DEK2'nin yüksek ve düşük ifadelerinde kolon adenokarsinomunda (COAD), sağkalım grafiği. Mavi eğri, medyandan daha az ifadeye sahip numuneler (n = 135) DEK için sağkalım oranını gösterirken, kırmızı eğri, medyan ifadesine eşit veya bundan daha fazla olan numuneler (n=135) için sağkalımı gösterir.

KICH hastalarında, hastalıksız sağkalım oranları için K-M grafiğine bakıldığında DEK1'in medyan ifadesinden daha yüksek veya daha düşük ifadelere sahip olduğu örnekler arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark gözlendi ($p < 0.05$). DEK1'in medyan ifadesinden daha düşük ifadelere sahip olduğu örneklerde sağkalım oranının daha yüksek olduğu görüldü. DEK2'nin medyan ifadesinden daha yüksek veya daha düşük ifadelere sahip olduğu örnekler arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p > 0.05$) (Şekil 5.16).



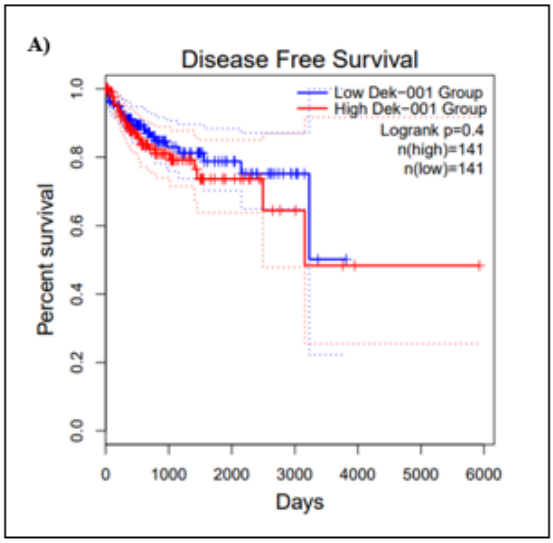
Şekil 5.16: TCGA verilerine göre, böbrek kromofob hücreli karsinomunda (KICH), *DEK* gen ifadesine bağlı sağkalımı gösteren K-M grafiği**.** A) DEK1'in yüksek ve düşük ifadelerinde böbrek kromofob hücreli karsinomunda (KICH) sağkalım grafiği B) DEK2'nin yüksek ve düşük ifadelerinde böbrek kromofob hücreli karsinomunda (KICH) sağkalım grafiği. Mavi eğri, DEK için medyandan daha az ifadeye sahip numuneler (n = 32) için sağkalım oranını gösterirken, kırmızı eğri, genin medyan ifadesine eşit veya bundan daha fazla olan numuneler (n=32) için sağkalımı gösterir.

KIRC hastalarında, hastalıksız sağkalım oranları için K-M grafiğine bakıldığında DEK1'in medyan ifadesinden daha yüksek veya daha düşük ifadelere sahip olduğu örnekler arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark gözlendi ($p < 0.05$). DEK1'in medyan ifadesinden daha düşük ifadelere sahip olduğu örneklerde sağkalım oranı daha yüksek görülmüştür. DEK2'nin medyan ifadesinden daha yüksek veya daha düşük ifadelere sahip olduğu örnekler arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p > 0.05$) (Şekil 5.17).



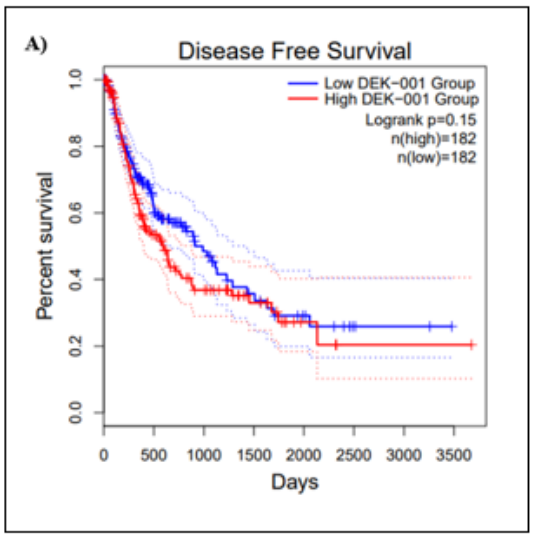
Şekil 5.17: TCGA verilerine göre, böbrek renal berrak hücreli karsinomunda (KIRC), DEK gen ifadesine bağlı sağkalımı gösteren K-M grafiği. A) DEK1'in yüksek ve düşük ifadelerinde böbrek renal berrak hücreli karsinomunda (KIRC) sağkalım grafiği B) DEK2'nin yüksek ve düşük ifadelerinde böbrek renal berrak hücreli karsinomunda (KIRC) sağkalım grafiği. Mavi eğri, DEK için medyandan daha az ifadeye sahip numuneler (n = 258) için sağkalım oranını gösterirken, kırmızı eğri, genin medyan ifadesine eşit veya bundan daha fazla olan numuneler (n=258) için sağkalımı gösterir.

KIRP hastalarında, hastalıksız sağkalım oranları için K-M grafiğine bakıldığında DEK1'in medyan ifadesinden daha yüksek veya daha düşük ifadelere sahip olduğu örnekler arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p < 0.05$) (Şekil 5.18). DEK2'nin böbrek papiller renal hücreli karsinomunda, sağkalım oranları için K-M grafiği verisi bulunamamıştır.



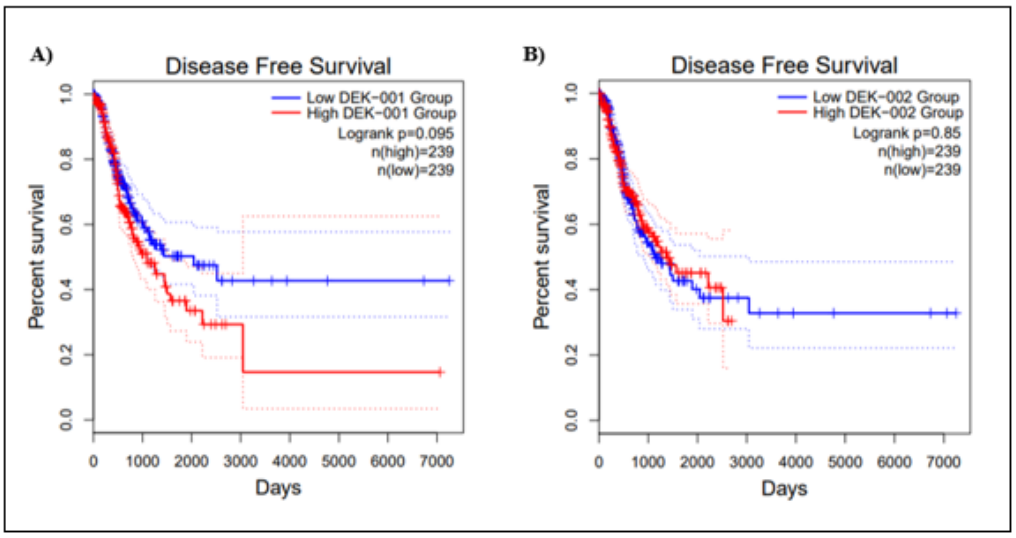
Şekil 5.18: TCGA verilerine göre, böbrek papiller renal hücreli karsinomunda (KIRP), *DEK* gen ifadesine bağlı sağkalımı gösteren K-M grafiği**.** A) DEK1'in yüksek ve düşük ifadelerinde böbrek papiller renal hücreli karsinomunda (KIRP) sağkalım grafiği. Mavi eğri, DEK için medyandan daha az ifadeye sahip numuneler (n = 141) için sağkalım oranını gösterirken, kırmızı eğri, genin medyan ifadesine eşit veya bundan daha fazla olan numuneler (n=141) için sağkalımı gösterir.

LIHC hastalarında, hastalıksız sağkalım oranları için K-M grafiğine bakıldığında DEK1'in medyan ifadesinden daha yüksek veya daha düşük ifadelere sahip olduğu örnekler arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p < 0.05$) (Şekil 5.19). DEK2'nin karaciğer hepatosellüler karsinomunda, sağkalım oranları için K-M grafiği verisi bulunamamıştır.



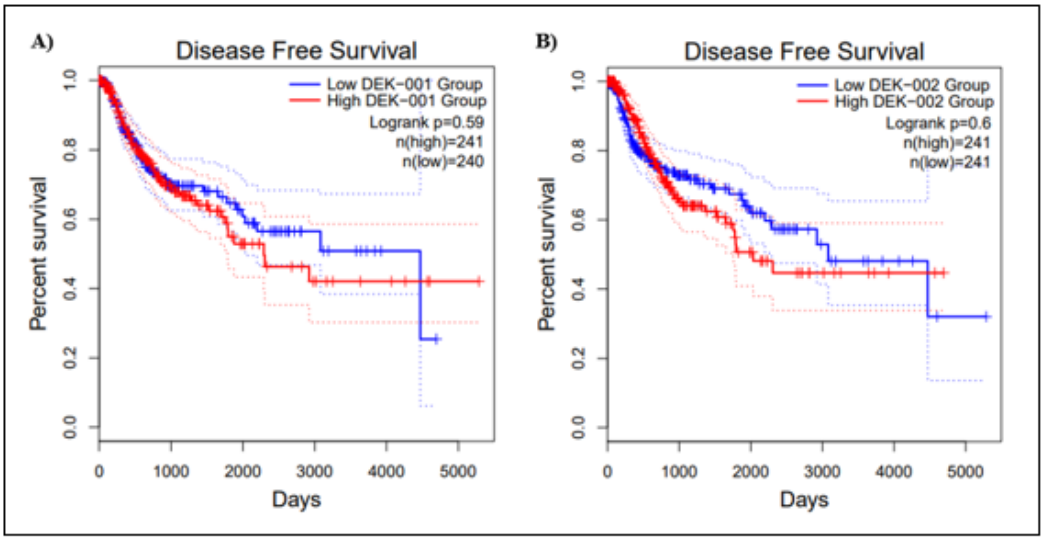
Şekil 5.19: TCGA verilerine göre, karaciğer hepatosellüler karsinomunda (LIHC), *DEK* gen ifadesine bağlı sağkalımı gösteren K-M grafiği**.** A) DEK1'in yüksek ve düşük ifadelerinde karaciğer hepatosellüler karsinomunda (LIHC) sağkalım grafiği. Mavi eğri, *DEK* için medyandan daha az ifadeye sahip numuneler (n = 182) için sağkalım oranını gösterirken, kırmızı eğri, genin medyan ifadesine eşit veya bundan daha fazla olan numuneler (n = 182) için sağkalımı gösterir.

LUAD hastalarında, hastalıksız sağkalım oranları için K-M grafiğine bakıldığında DEK1'in medyan ifadesinden daha yüksek veya daha düşük ifadelere sahip olduğu örnekler arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$). DEK2'nin medyan ifadesinden daha yüksek veya daha düşük ifadelere sahip olduğu örnekler arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p> 0.05$) (Şekil 5.20).



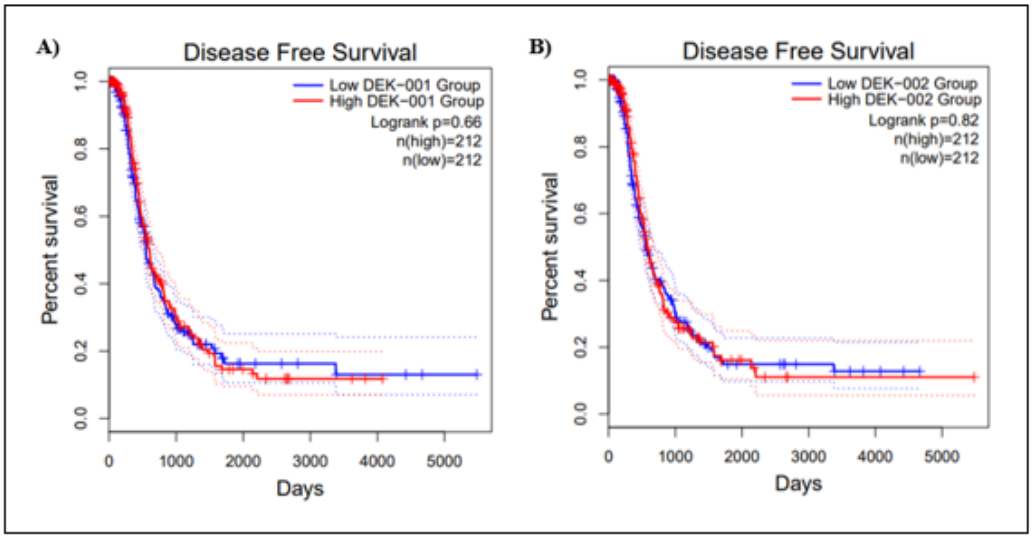
Şekil 5.20: TCGA verilerine göre, akciğer adenokarsinomunda (LUAD), *DEK* gen ifadesine bağlı sağkalımı gösteren K-M grafiği**.** A) DEK1'in yüksek ve düşük ifadelerinde akciğer adenokarsinomunda (LUAD) sağkalım grafiği B) DEK2'nin yüksek ve düşük ifadelerinde akciğer adenokarsinomunda (LUAD) sağkalım grafiği. Mavi eğri, DEK için medyandan daha az ifadeye sahip numuneler (n = 239) için sağkalım oranını gösterirken, kırmızı eğri, genin medyan ifadesine eşit veya bundan daha fazla olan numuneler (n=239) için sağkalım gösterir.

LUSC hastalarında, hastalıksız sağkalım oranları için K-M grafiğine bakıldığında DEK1'in medyan ifadesinden daha yüksek veya daha düşük ifadelere sahip olduğu örnekler arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$). DEK2'nin medyan ifadesinden daha yüksek veya daha düşük ifadelere sahip olduğu örnekler arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p> 0.05$) (Şekil 5.21).



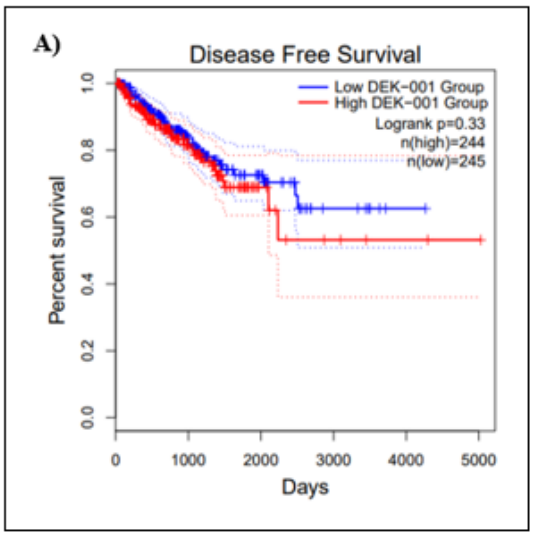
Şekil 5.21: TCGA verilerine göre, akciğer skuamöz hücreli karsinomunda (LUSC), *DEK* gen ifadesine bağlı sağkalımı gösteren K-M grafiği**.** A) DEK1'in yüksek ve düşük ifadelerinde akciğer skuamöz hücreli karsinomunda (LUSC) sağkalım grafiği B) DEK2'nin yüksek ve düşük ifadelerinde akciğer skuamöz hücreli karsinomunda (LUSC) sağkalım grafiği. Mavi eğri, DEK için medyandan daha az ifadeye sahip numuneler (n = 240) için sağkalım oranını gösterirken, kırmızı eğri, genin medyan ifadesine eşit veya bundan daha fazla olan numuneler (n=241) için sağkalımı gösterir.

OV hastalarında, hastalıksız sağkalım oranları için K-M grafiğine bakıldığında DEK1 ve DEK2'nin medyan ifadesinden daha yüksek veya daha düşük ifadelere sahip olduğu örnekler arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$) (Şekil 5.22).



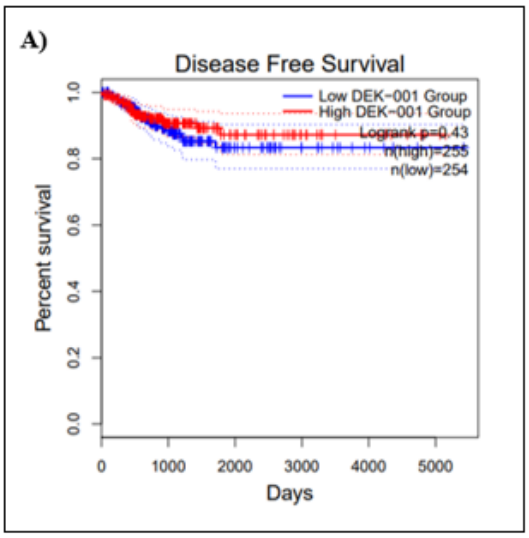
Şekil 5.22**:** TCGA verilerine göre, yumurtalık kanserinde (OV), *DEK* gen ifadesine bağlı sağkalımı gösteren K-M grafiği**.** A) DEK1'in yüksek ve düşük ifadelerinde yumurtalık kanserinde (OV) sağkalım grafiği B) DEK2'nin yüksek ve düşük ifadelerinde yumurtalık kanserinde (OV) sağkalım grafiği. Mavi eğri, DEK için medyandan daha az ifadeye sahip numuneler (n = 212) için sağkalım oranını gösterirken, kırmızı eğri, genin medyan ifadesine eşit veya bundan daha fazla olan numuneler (n = 212) için sağkalımı gösterir.

PRAD hastalarında, hastalıksız sağkalım oranları için K-M grafiğine bakıldığında DEK1'in medyan ifadesinden daha yüksek veya daha düşük ifadelere sahip olduğu örnekler arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p < 0.05$) (Şekil 5.23). DEK2'nin prostat adenokarsinomunda, sağkalım oranları için K-M grafiği verisi bulunamamıştır.



Şekil 5.23: TCGA verilerine göre, prostat adenokarsinomunda (PRAD), *DEK* gen ifadesine bağlı sağkalımı gösteren K-M grafiği**.** A) *DEK1*'in yüksek ve düşük ifadelerinde prostat adenokarsinomunda (PRAD) sağkalım grafiği. Mavi eğri, DEK için medyandan daha az ifadeye sahip numuneler (n = 245) için sağkalım oranını gösterirken, kırmızı eğri, genin medyan ifadesine eşit veya bundan daha fazla olan numuneler (n=244) için sağkalımı gösterir. P <0.05, istatiksel olarak anlamlı kabul edilir.

THCA hastalarında, hastalıksız sağkalım oranları için K-M grafiğine bakıldığında DEK1'in medyan ifadesinden daha yüksek veya daha düşük ifadelere sahip olduğu örnekler arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir (p>0.05) (Şekil 5.24). DEK2'nin tiroid karsinomunda, sağkalım oranları için K-M grafiği verisi bulunamamıştır.



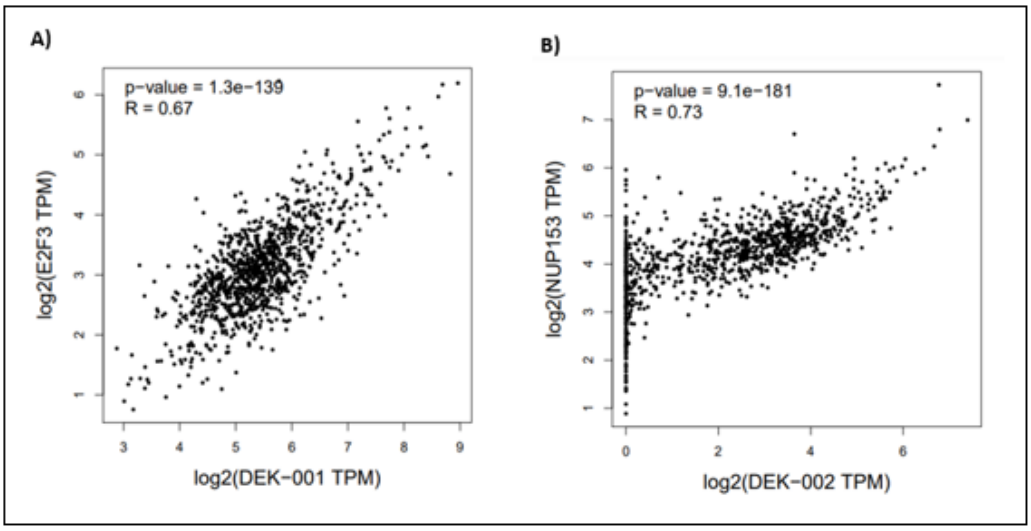
Şekil 5.24: TCGA verilerine göre, tiroid karsinomunda (THCA), *DEK* gen ifadesine bağlı sağkalımı gösteren K-M grafiği**.** A) DEK1'in yüksek ve düşük ifadelerinde tiroid karsinomunda (THCA) sağkalım grafiği. Mavi eğri, DEK için medyandan daha az ifadeye sahip numuneler (n = 254) için sağkalım oranını gösterirken, kırmızı eğri, genin medyan ifadesine eşit veya bundan daha fazla olan numuneler (n=255) için sağkalımı gösterir.

Tablo 5.1: Kanser türlerinde DEK1 ve DEK2 yüksek ve düşük ifadelerindeki sağkalımı gösteren pearson değerleri.

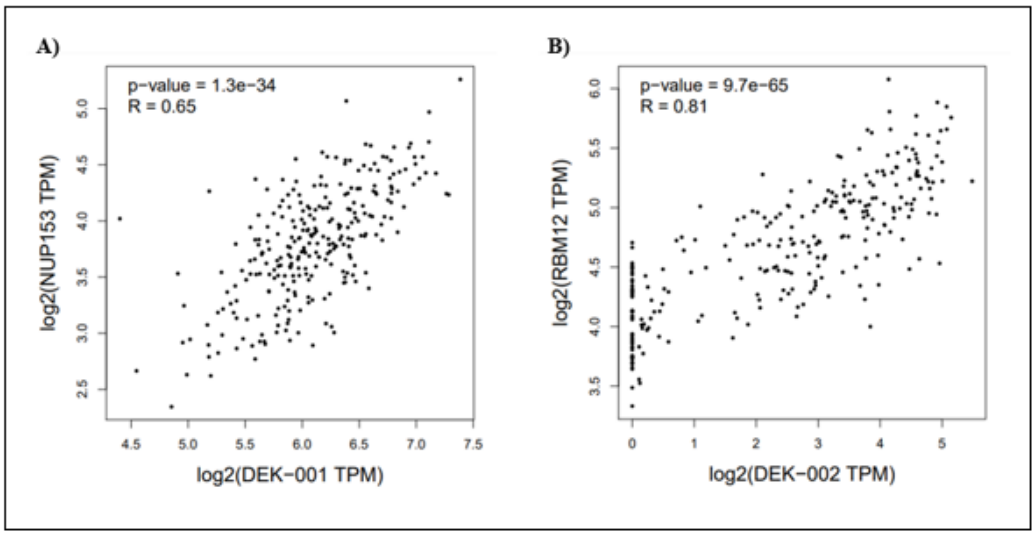
	DEK1	DEK2
BRCA	r=0.59	r=0.22
COAD	r=0.42	r=0.22
KICH	r=0.032	r=0.13
KIRC	r=0.038	r=0.15
KIRP	r=0.4	-
LIHC	r=0.15	-
LUAD	r=0.095	r=0.85
LUSC	r=0.59	r=0.6
OV	r=0.66	r=0.82
PRAD	r=0.33	-
THCA	r=0.43	-

5.5 TCGA Verileri Kullanılarak Primer Tümör Dokularda DEK1 ve DEK2 İfadesi ile Benzer İfade Gösteren Genlerin Bulunması

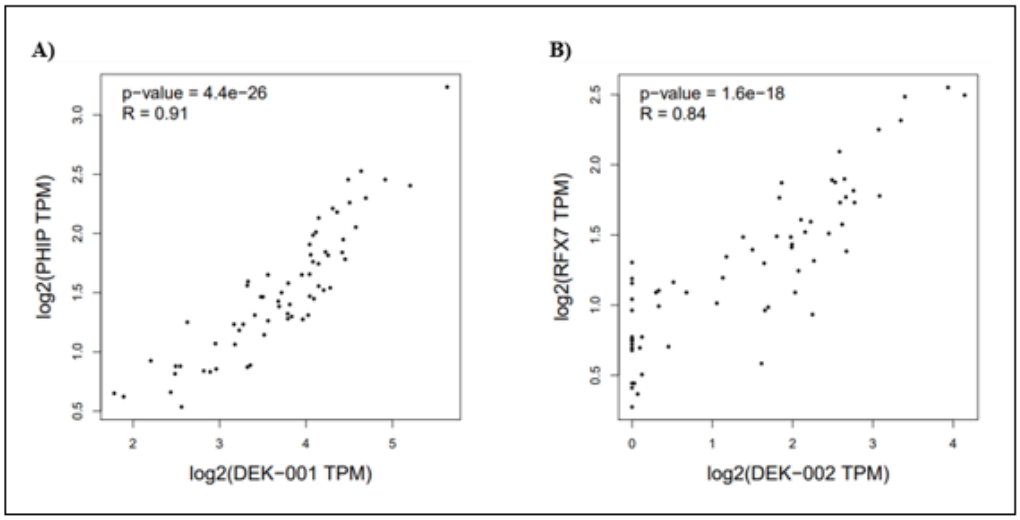
TCGA Pan-Kanser ’den (TCGA-PANCAN) primer tümör örneklerinde *DEK* gen ifadesi ile korelasyon gösteren gen ifadelerini belirlemek için, gen ifadesi profilleme etkileşimli analiz (GEPIA2) aracı kullanıldı. Göğüs kanserinde (BRCA), kolon adenokarsinomunda (COAD), böbrek kromofob hücreli karsinomunda (KICH), böbrek renal berrak hücreli karsinomunda (KIRC), böbrek papiller renal hücreli karsinomunda (KIRP), karaciğer hepatosellüler karsinomunda (LIHC), akciğer adenokarsinomunda (LUAD), akciğer skuamöz hücreli karsinomunda (LUSC), yumurtalık kanserinde (OV), prostat adenokarsinomunda (PRAD), ve tiroid karsinomunda (THCA) DEK1 ve DEK2 ifadesi ile pozitif korelasyon gösteren genler bulundu. DEK1 ve DEK2 ifadesi ile pozitif korelasyon değeri en yüksek olan gen arasındaki ilişki grafiklerle gösterilmektedir (Şekil 5.25-5.35). DEK1 ve DEK2 ifadesi ile pozitif korelasyon gösteren ilk 10 gen tablolarda gösterilmektedir (Tablo 5.2-5.23).



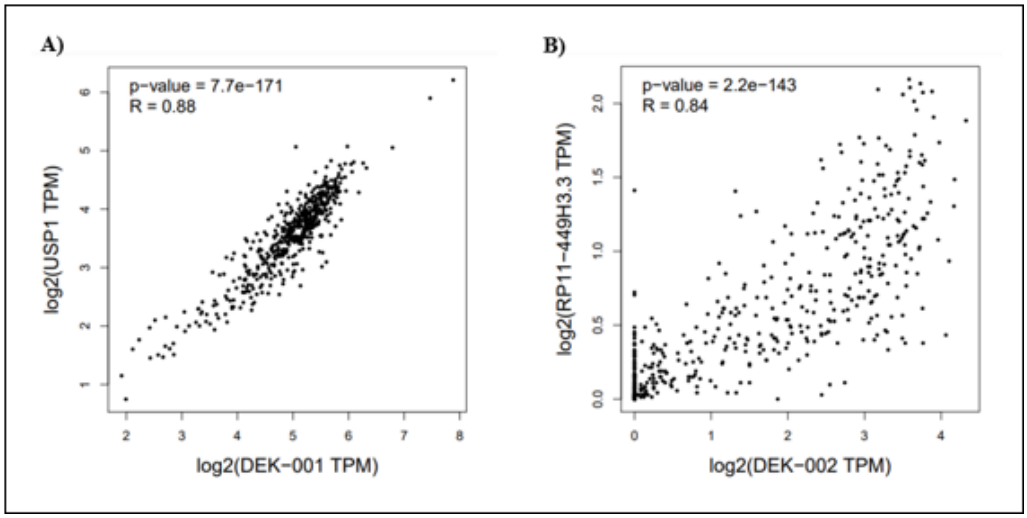
Şekil 5.25: Göğüs kanserinde (BRCA) *DEK* gen ifadesi ile korelasyon değeri en yüksek olan genler arasındaki korelasyon grafiği. A) DEK1 izoform ifadesi ile *E2F3* gen ifadesi arasındaki korelasyon grafiği. B) DEK2 izoform ifadesi ile *NUP153* gen ifadesi arasındaki korelasyon grafiği.



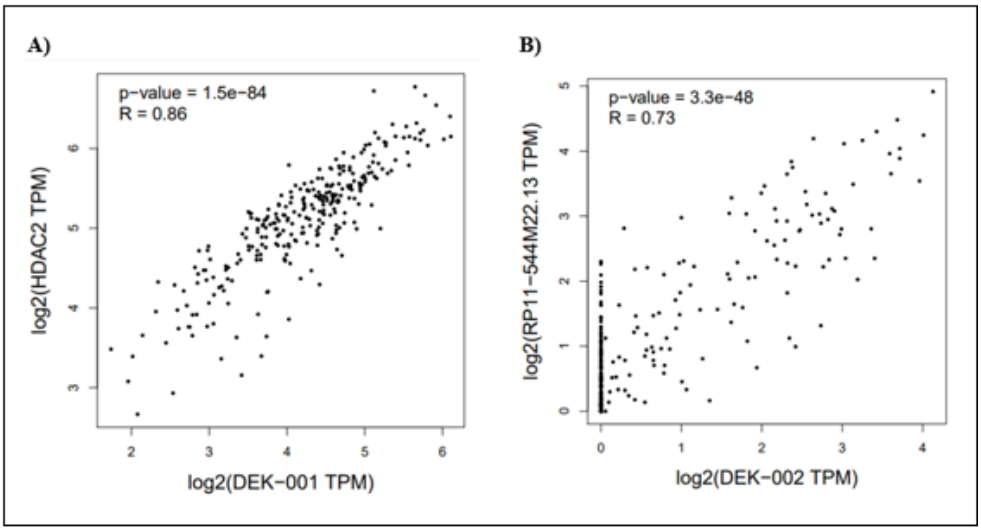
Şekil 5.26: Kolon adenokarsinomunda (COAD) *DEK* geninin ifadesi ile korelasyon değeri en yüksek olan genler arasındaki korelasyon grafiği. A) DEK1 izoform ifadesi ile *NUP153* arasındaki korelasyon grafiği. B) DEK2 izoform ifadesi ile *RBM12* gen ifadesi arasındaki korelasyon grafiği.



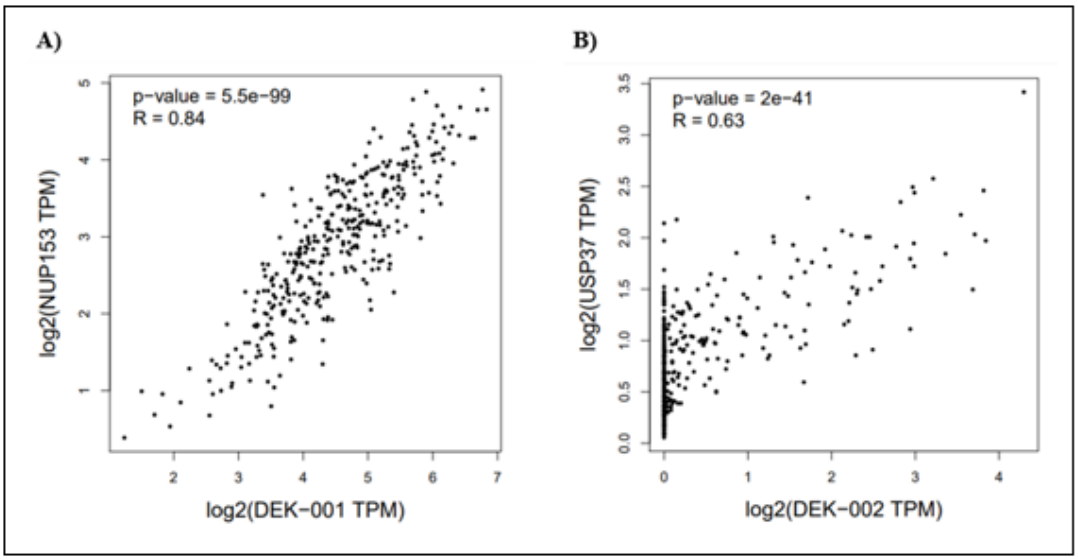
Şekil 5.27: Böbrek kromofob hücreli karsinomunda (KICH) *DEK* geninin ifadesi ile korelasyon değeri en yüksek olan genler arasındaki korelasyon grafiği. A) DEK1 izoform ifadesi ile *PHIP* geni ifadesi arasındaki korelasyon grafiği. B) DEK2 izoform ifadesi ile *RFX7* gen ifadesi arasındaki korelasyon grafiği.



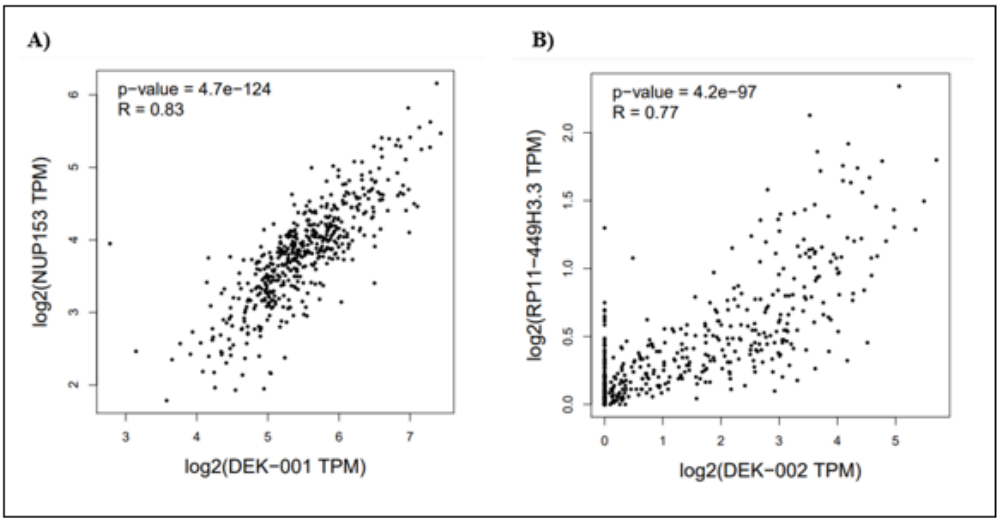
Şekil 5.28: Böbrek renal berrak hücreli karsinomunda (KIRC) *DEK* geninin ifadesi ile korelasyon değeri en yüksek olan genler arasındaki korelasyon grafiği. A) *DEK1* izoform ifadesi ile USP1 izoform ifadesi arasındaki korelasyon grafiği. B) DEK2 izoform ifadesi ile *RP11-449H3.3* gen ifadesi arasındaki korelasyon grafiği.



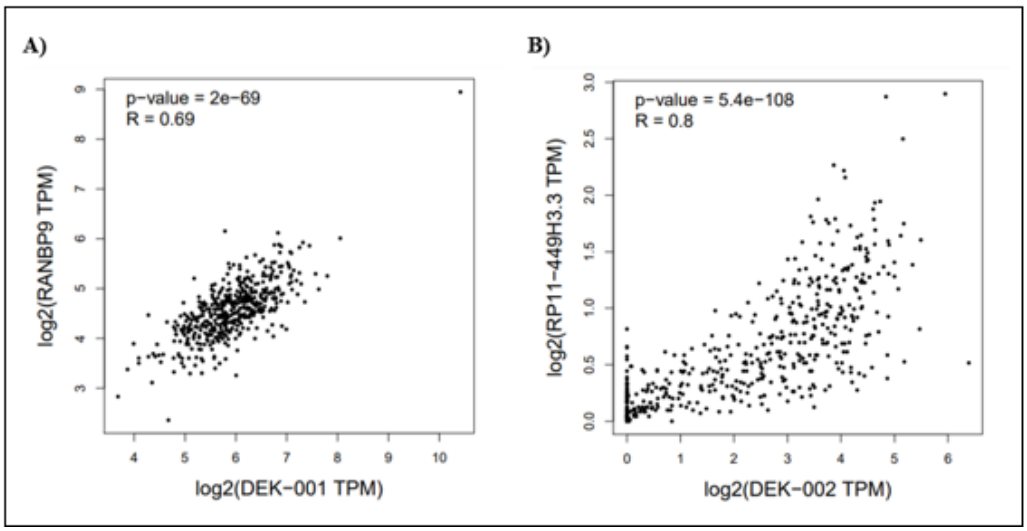
Şekil 5.29: Böbrek papiller renal hücreli karsinomunda (KIRP) *DEK* geninin ifadesi ile korelasyon değeri en yüksek olan genler arasındaki korelasyon grafiği. A) DEK1 izoform ifadesi ile *HDAC2* gen ifadesi arasındaki korelasyon grafiği. B) DEK2 izoform ifadesi ile *RP11-544M22.13* gen ifadesi arasındaki korelasyon grafiği.



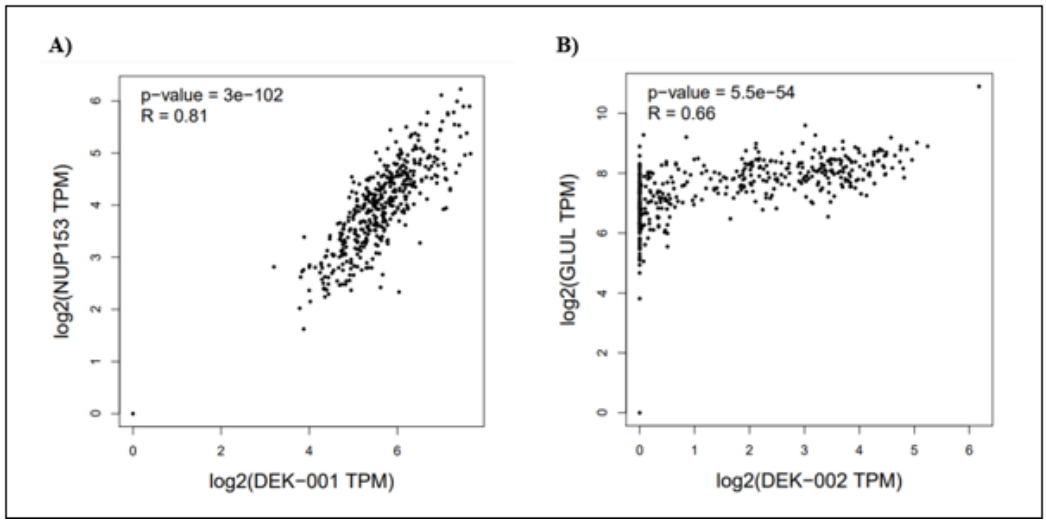
Şekil 5.30: Karaciğer hepatosellüler karsinomunda (LIHC) *DEK* gen ifadesi ile en benzer gen ifadesi gösteren genler. A) DEK1 izoform ifadesi ile *NUP153* arasındaki korelasyon grafiği B) DEK2 izoform ifadesi ile *USP37* gen ifadesi arasındaki korelasyon grafiği.



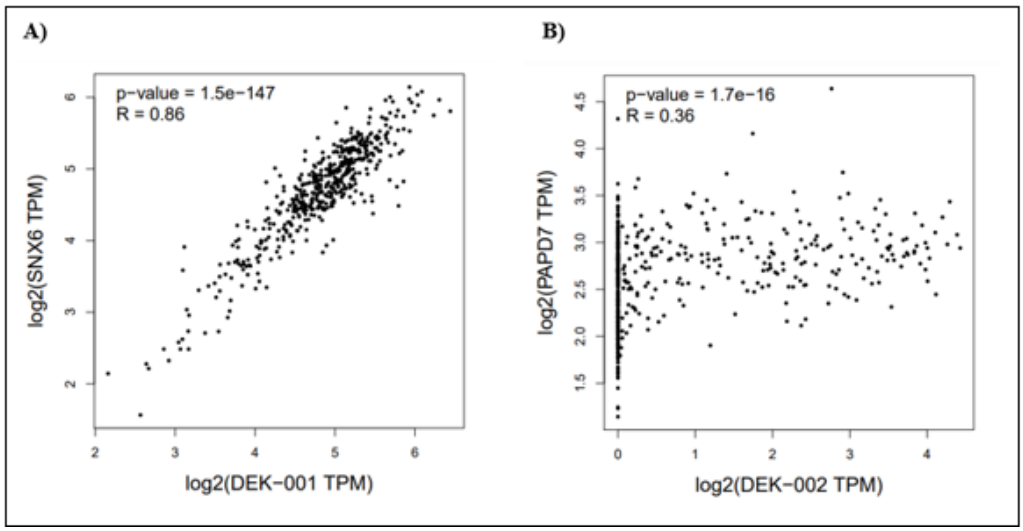
Şekil 5.31: Akciğer adenokarsinomunda (LUAD) *DEK* geninin ifadesi ile korelasyon değeri en yüksek olan genler arasındaki korelasyon grafiği. A) DEK1 izoform ifadesi ile *NUP153* gen ifadesi arasındaki korelasyon grafiği. B) DEK2 izoform ifadesi ile *RP11-449H3.3* gen ifadesi arasındaki korelasyon grafiği.



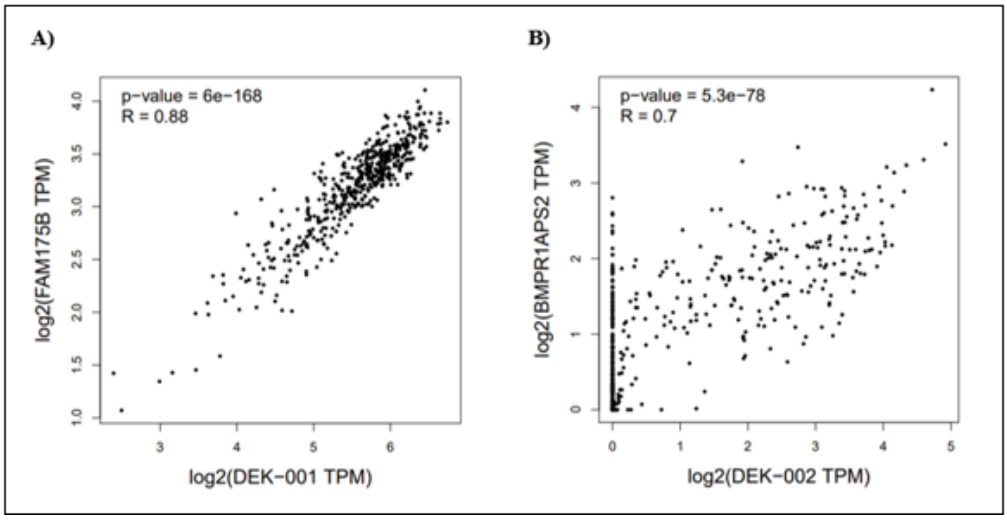
Şekil 5.32: Akciğer skuamöz hücreli karsinomunda (LUSC) *DEK* geninin ifadesi ile en benzer gen ifadesi gösteren genler. A) DEK1 izoform ifadesi ile *RANBP9* arasındaki korelasyon grafiği. B) DEK2 izoform ifadesi ile *RP11-449H3.3* gen ifadesi arasındaki korelasyon grafiği.



Şekil 5.33: Yumurtalık kanserinde (OV) *DEK* geninin ifadesi ile korelasyon değeri en yüksek olan genler arasındaki korelasyon grafiği. A) DEK1 izoform ifadesi ile *NUP153* gen ifadesi arasındaki korelasyon grafiği. B) DEK2 izoform ifadesi ile *GLUL* gen ifadesi arasındaki korelasyon grafiği.



Şekil 5.34: Prostat adenokarsinomunda (PRAD) *DEK* geninin ifadesi ile korelasyon değeri en yüksek olan genler arasındaki korelasyon grafiği. A) DEK1 izoformu ifadesi ile *SNX6* gen ifadesi arasındaki korelasyon grafiği. B) DEK2 izoformu ifadesi ile *PAPD7* gen ifadesi arasındaki korelasyon grafiği.



Şekil 5.35: Tiroid karsinomunda (THCA) *DEK* geninin ifadesi ile korelasyon değeri en yüksek olan genler arasındaki korelasyon grafiği. A) DEK1 izoformu ifadesi ile *FAM175B* gen ifadesi ile arasındaki korelasyon grafiği. B) DEK2 izoformu ifadesi ile *BMPR1APS2* gen ifadesi arasındaki korelasyon grafiği.

Tablo 5.2: Göğüs kanserinde (BRCA) DEK1 izoformu ile benzer ifade gösteren genler. Pearson korelasyon katsayısı (PCC) değerleriyle gösterilmiştir.

Gen	**Pearson CC**
E2F3	0.79
NUP153	0.76
KDM1B	0.71
TTK	0.68
USP1	0.68
MCM3	0.67
SRPK1	0.67
MSH2	0.66
MMS22L	0.66
MSH6	0.64

TCGA Pan-Kanser veri tabanından alınan göğüs kanseri (BRCA) verilerine göre DEK1 izoformu ile benzer ifade gösteren genler gösterilmiştir (Tablo 5.2). Bu kanser türünde *E2F3* gen ifadesi DEK1 izoformu ile en yüksek oranda (pcc =0.79) pozitif korelasyon gösteren gen olarak bulunmuştur.

Tablo 5.3**:** Göğüs kanserinde (BRCA) DEK2 izoformu ile benzer ifade gösteren genler. Pearson korelasyon katsayısı (PCC) değerleriyle gösterilmiştir.

Gen	**Pearson CC**
NUP153	0.76
KDM1B	0.73
AC092835.2	0.65
TOPBP1	0.64
RIF1	0.62
PRKD3	0.62
SYNCRIP	0.62
MMS22L	0.61
MSH6	0.61
DDX18	0.6

TCGA Pan-Kanser veri tabanından alınan göğüs kanserinde (BRCA) DEK2 izoformu ile benzer ifade gösteren genler gösterilmiştir (Tablo 5.3). Bu kanser türünde *NUP153* geni DEK2 izoformu ile en yüksek oranda (pcc =0.76) pozitif korelasyon gösteren gen olarak bulunmuştur.

Tablo 5.4: Kolon adenokarsinomunda (COAD) DEK1 izoformu ile benzer ifade gösteren genler. Pearson korelasyon katsayısı (PCC) değerleriyle gösterilmiştir.

Gen	**Pearson CC**
NUP153	0.68
PRIM2	0.67
PRPF4B	0.66
RIOK1	0.64
NOL7	0.64
PAK1IP1	0.63
RANBP9	0.63
KDM1B	0.63
CDC5L	0.61
BLOC1S5	0.61

TCGA Pan-Kanser veri tabanından alınan kolon adenokarsinomunda (COAD) DEK1 izoformu ile benzer ifade gösteren genler gösterilmiştir (Tablo 5.4). Bu kanser türünde *NUP153* geni DEK1 izoformu ile en yüksek oranda (pcc =0.68) pozitif korelasyon gösteren gen olarak bulunmuştur.

Tablo 5.5: Kolon adenokarsinomunda (COAD) DEK2 izoformu ile benzer ifade gösteren genler. Pearson korelasyon katsayısı (PCC) değerleriyle gösterilmiştir.

Gen	**Pearson CC**
RBM12	0.75
SF3A1	0.72
RP11-449H3.3	0.72
ZNF148	0.7
FYTTD1	0.7
CREB1	0.7
LUC7L2	0.7
TRIM44	0.7
NUP153	0.7
RP11-56G10.2	0.69

TCGA Pan-Kanser veri tabanından alınan kolon adenokarsinomunda (COAD) DEK2 izoformu ile benzer ifade gösteren genler gösterilmiştir (Tablo 5.5). Bu kanser türünde *RBM12* geni DEK2 izoformu ile en yüksek oranda (pcc =0.75) pozitif korelasyon gösteren gen olarak bulunmuştur.

Tablo 5.6: Böbrek kromofob hücreli karsinom (KICH) DEK1 izoformu ile benzer ifade gösteren genler. Pearson korelasyon katsayısı (PCC) değerleriyle gösterilmiştir.

Gen	Pearson CC
PHIP	0.93
FNDC3B	0.92
SYF2	0.91
KHDRBS1	0.9
FBXO5	0.9
KPNB1	0.9
EIF2S3	0.9
FUBP1	0.89
SERBP1	0.89
MMS22L	0.89

TCGA Pan-Kanser veri tabanından alınan böbrek kromofob hücreli karsinom (KICH) DEK1 izoformu ile benzer ifade gösteren genler gösterilmiştir (Tablo 5.6). Bu kanser türünde *PHIP* geni DEK1 izoformu ile en yüksek oranda (pcc =0.93) korelasyon gösteren gen olarak bulunmuştur.

Tablo 5.7: Böbrek kromofob hücreli karsinom (KICH) DEK2 izoformu ile benzer ifade gösteren genler. Pearson korelasyon katsayısı (PCC) değerleriyle gösterilmiştir.

Gen	Pearson CC
RFX7	0.9
QSER1	0.9
FBXO5	0.9
MMS22L	0.89
HDGFRP3	0.88
MTAP	0.88
NCK1	0.87
LIN9	0.87
SRPK1	0.87
TAF2	0.87

TCGA Pan-Kanser veri tabanından alınan böbrek kromofob hücreli karsinom (KICH) DEK2 izoformu ile benzer ifade gösteren genler gösterilmiştir (Tablo 5.7). Bu kanser türünde *RFX7* geni DEK2 izoformu ile en yüksek oranda (pcc =0.9) pozitif korelasyon gösteren gen olarak bulunmuştur.

Tablo 5.8: Böbrek renal berrak hücreli karsinomunda (KIRC) DEK1 izoformu ile benzer ifade gösteren genler. Pearson korelasyon katsayısı (PCC) değerleriyle gösterilmiştir.

Gen	**Pearson CC**
USP1	0.91
NUS1	0.88
FAM98B	0.89
GABPA	0.86
SP3	0.86
MATR3	0.86
ACAP2	0.86
ABHD13	0.85
ACTR6	0.86
ABHD13	0.85

TCGA Pan-Kanser veri tabanından alınan böbrek renal berrak hücreli karsinomunda (KIRC) DEK1 izoformu ile benzer ifade gösteren genler gösterilmiştir (Tablo 5.8). Bu kanser türünde *USP1* geni DEK1 izoformu ile en yüksek oranda (pcc =0.91) pozitif korelasyon gösteren gen olarak bulunmuştur.

Tablo 5.9: Böbrek renal berrak hücreli karsinomunda (KIRC) DEK2 izoformu ile benzer ifade gösteren genler. Pearson korelasyon katsayısı (PCC) değerleriyle gösterilmiştir.

Gen	**Pearson CC**
RP11-449H3.3	0.76
TRIM44	0.76
PI4K2B	0.75
WDR3	0.75
RBM12	0.74
RP11-181C21.4	0.74
PLEKHM3	0.74
RP11-244H3.4	0.73
ADAM10	0.73
SLC2A3P1	0.73

TCGA Pan-Kanser veri tabanından alınan böbrek renal berrak hücreli karsinomunda (KIRC) DEK2 izoformu ile benzer ifade gösteren genler gösterilmiştir (Tablo 5.9). Bu kanser türünde *RP11-449H3.3* geni DEK2 izoformu ile en yüksek oranda (pcc =0.76) pozitif korelasyon gösteren gen olarak bulunmuştur.

Tablo 5.10: Böbrek papiller renal hücreli karsinomunda (KIRP) DEK1 izoformu ile benzer ifade gösteren genler. Pearson korelasyon katsayısı (PCC) değerleriyle gösterilmiştir.

Gen	**Pearson CC**
HDAC2	0.86
FBXO5	0.85
SSRP1	0.85
KHDRBS1	0.85
SMC3	0.84
USP1	0.84
SRSF3	0.84
NUP153	0.84
ZBTB2	0.84
ZNF146	0.84

TCGA Pan-Kanser veri tabanından alınan böbrek papiller renal hücreli karsinomunda (KIRP) DEK1 izoformu ile benzer ifade gösteren genler gösterilmiştir (Tablo 5.10). Bu kanser türünde *HDAC2* geni DEK1 izoformu ile en yüksek oranda (pcc =0.86) pozitif korelasyon gösteren gen olarak bulunmuştur.

Tablo 5.11: Böbrek papiller renal hücreli karsinomunda (KIRP) DEK2 izoformu ile benzer ifade gösteren genler. Pearson korelasyon katsayısı (PCC) değerleriyle gösterilmiştir.

Gen	**Pearson CC**
RP11-544M22.13	0.85
RP11-181C21.4	0.83
POMK	0.82
SMC1A	0.81
CREB1	0.81
RP11-449H3.3	0.81
MAPK1	0.81
RBM12	0.81
GNL3L	0.8
PLEKHM3	0.79

TCGA Pan-Kanser veri tabanından alınan böbrek papiller renal hücreli karsinomunda (KIRP) DEK2 izoformu ile benzer ifade gösteren genler gösterilmiştir

(Tablo 5.11). Bu kanser türünde *RP11-544M22.13* geni DEK2 izoformu ile en yüksek oranda (pcc =0.85) pozitif korelasyon gösteren gen olarak bulunmuştur.

Tablo 5.12: Karaciğer hepatosellüler karsinomunda (LIHC) DEK1 izoformu ile benzer ifade gösteren genler. Pearson korelasyon katsayısı (PCC) değerleriyle gösterilmiştir.

Gen	**Pearson CC**
NUP153	0.83
CDKAL1	0.82
PRPF4B	0.79
SUZ12	0.78
STAG1	0.78
MCM3	0.78
ZNF322	0.78
CENPQ	0.77
CDC5L	0.77
TOPBP1	0.76

TCGA Pan-Kanser veri tabanından alınan karaciğer hepatosellüler karsinomunda (LIHC) DEK1 izoformu ile benzer ifade gösteren genler gösterilmiştir (Tablo 5.12). Bu kanser türünde *NUP153* geni DEK1 izoformu ile en yüksek oranda (pcc =0.83) pozitif korelasyon gösteren gen olarak bulunmuştur.

Tablo 5.13: Karaciğer hepatosellüler karsinomunda (LIHC) DEK2 izoformu ile benzer ifade gösteren genler. Pearson korelasyon katsayısı (PCC) değerleriyle gösterilmiştir.

Gen	**Pearson CC**
USP37	0.74
ZBED6	0.71
SMC1A	0.7
POMK	0.7
SMAD4	0.68
EXOC5	0.68
BIVM-ERCC5	0.67
INTS2	0.67
KLHL11	0.66
MFAP3	0.66

TCGA Pan-Kanser veri tabanından alınan karaciğer hepatosellüler karsinomunda (LIHC) DEK2 izoformu ile benzer ifade gösteren genler gösterilmiştir (Tablo 5.13). Bu kanser türünde *USP37* geni DEK2 izoformu ile en yüksek oranda (pcc =0.74) pozitif korelasyon gösteren gen olarak bulunmuştur.

Tablo 5.14: Akciğer adenokarsinomunda (LUAD) DEK1 izoformu ile benzer ifade gösteren genler. Pearson korelasyon katsayısı (PCC) değerleriyle gösterilmiştir.

Gen	**Pearson CC**
NUP153	0.83
RRM1	0.78
KHDRBS1	0.78
TRA2B	0.77
RBL1	0.77
FBXO5	0.76
MSH6	0.76
HNRNPR	0.75
MCM3	0.75
MSH2	0.75

TCGA Pan-Kanser veri tabanından alınan akciğer adenokarsinomunda (LUAD) DEK1 izoformu ile benzer ifade gösteren genler gösterilmiştir (Tablo 5.14). Bu kanser türünde *NUP153* geni DEK1 izoformu ile en yüksek oranda (pcc =0.83) pozitif korelasyon gösteren gen olarak bulunmuştur.

Tablo 5.15: Akciğer adenokarsinomunda (LUAD) DEK2 izoformu ile benzer ifade gösteren genler. Pearson korelasyon katsayısı (PCC) değerleriyle gösterilmiştir.

Gen	**Pearson CC**
RP11-449H3.3	0.75
PAPD7	0.71
CTDSPL2	0.69
PI4K2B	0.69
LUC7L2	0.69
CREB1	0.68
MFAP3	0.67
RP11-56G10.2	0.67
RBM12	0.66
ZFP91	0.66

TCGA Pan-Kanser veri tabanından alınan akciğer adenokarsinomunda (LUAD) DEK2 izoformu ile benzer ifade gösteren genler gösterilmiştir (Tablo 5.15). Bu kanser türünde *RP11-449H3.3* geni DEK2 izoformu ile en yüksek oranda (pcc =0.75) pozitif korelasyon gösteren gen olarak bulunmuştur.

Tablo 5.16: Akciğer skuamöz hücreli karsinomunda (LUSC) DEK1 izoformu ile benzer ifade gösteren genler. Pearson korelasyon katsayısı (PCC) değerleriyle gösterilmiştir.

Gen	**Pearson CC**
RANBP9	0.93
MCUR1	0.91
SMIM13	0.9
RN7SL392P	0.88
NOL7	0.87
OR8R1P	0.86
RP3-404K8.2	0.86
RP11-354I10.1	0.85
BMP6	0.82
ELOVL2	0.82

TCGA Pan-Kanser veri tabanından alınan akciğer skuamöz hücreli karsinomunda (LUSC) DEK1 izoformu ile benzer ifade gösteren genler gösterilmiştir (Tablo 5.16). Bu kanser türünde *RANBP9* geni DEK1 izoformu ile en yüksek oranda (pcc =0.93) pozitif korelasyon gösteren gen olarak bulunmuştur.

Tablo 5.17: Akciğer skuamöz hücreli karsinomunda (LUSC) DEK2 izoformu ile benzer ifade gösteren genler. Pearson korelasyon katsayısı (PCC) değerleriyle gösterilmiştir.

Gen	**Pearson CC**
RP11-449H3.3	0.64
RBM12	0.63
SMC1A	0.62
NUP153	0.61
KDM1B	0.61
KLHL11	0.6
BCLAF1	0.59
PBRM1	0.59
SMARCC1	0.58
DDX46	0.58

TCGA Pan-Kanser veri tabanından alınan akciğer skuamöz hücreli karsinomunda (LUSC) DEK2 izoformu ile benzer ifade gösteren genler gösterilmiştir (Tablo 5.17). Bu kanser türünde *RP11-449H3.3* geni DEK2 izoformu ile en yüksek oranda (pcc =0.64) pozitif korelasyon gösteren gen olarak bulunmuştur.

Tablo 5.18: Yumurtalık kanserinde (OV) DEK1 izoformu ile benzer ifade gösteren genler. Pearson korelasyon katsayısı (PCC) değerleriyle gösterilmiştir.

Gen	**Pearson CC**
NUP153	0.78
CDKAL1	0.72
MCM3	0.71
E2F3	0.7
RANBP9	0.69
ZNF184	0.67
PAK1IP1	0.66
TDP2	0.66
SMIM13	0.65
NOL7	0.65

TCGA Pan-Kanser veri tabanından alınan yumurtalık kanserinde (OV) DEK1 izoformu ile benzer ifade gösteren genler gösterilmiştir (Tablo 5.18). Bu kanser türünde *NUP153* geni DEK1 izoformu ile en yüksek oranda (pcc =0.78) pozitif korelasyon gösteren gen olarak bulunmuştur.

Tablo 5.19: Yumurtalık kanserinde (OV) DEK2 izoformu ile benzer ifade gösteren genler. Pearson korelasyon katsayısı (PCC) değerleriyle gösterilmiştir.

Gen	**Pearson CC**
GLUL	0.66
BIVM-ERCC5	0.65
SOAT1	0.63
FAM20B	0.63
RBM12	0.63
RNF2	0.61
ZNF207	0.61
RP11-438J1.1	0.61
EXOC5	0.6
NUP153	0.6

TCGA Pan-Kanser veri tabanından alınan yumurtalık kanserinde (OV) DEK2 izoformu ile benzer ifade gösteren genler gösterilmiştir (Tablo 5.19). Bu kanser türünde *GLUL* geni DEK2 izoformu ile en yüksek oranda (pcc =0.66) pozitif korelasyon gösteren gen olarak bulunmuştur.

Tablo 5.20: Prostat adenokarsinomunda (PRAD) DEK1 izoformu ile benzer ifade gösteren genler. Pearson korelasyon katsayısı (PCC) değerleriyle gösterilmiştir.

Gen	**Pearson CC**
SNX6	0.86
MOB1A	0.84
PCNP	0.84
USP1	0.84
NEDD1	0.83
ACAP2	0.83
SUZ12	0.83
SP3	0.83
EXOC5	0.6
NUP153	0.6

TCGA Pan-Kanser veri tabanından alınan prostat adenokarsinomunda (PRAD) DEK1 izoformu ile benzer ifade gösteren genler gösterilmiştir (Tablo 5.20). Bu kanser türünde *SNX6* geni DEK1 izoformu ile en yüksek oranda (pcc =0.86) pozitif korelasyon gösteren gen olarak bulunmuştur.

Tablo 5.21: Prostat adenokarsinomunda (PRAD) DEK2 izoformu ile benzer ifade gösteren genler. Pearson korelasyon katsayısı (PCC) değerleriyle gösterilmiştir.

Gen	**Pearson CC**
PAPD7	0.84
CREB1	0.83
CTDSPL2	0.83
PHC3	0.82
RP11-159G9.5	0.82
RSF1	0.82
POMK	0.82
ZNF148	0.82
MAPK1	0.82
RP11-449H3.3	0.81

TCGA Pan-Kanser veri tabanından alınan prostat adenokarsinomunda (PRAD) DEK2 izoformu ile benzer ifade gösteren genler gösterilmiştir (Tablo 5.21). Bu kanser türünde *PAPD7* geni DEK2 izoformu ile en yüksek oranda (pcc =0.84) pozitif korelasyon gösteren gen olarak bulunmuştur.

Tablo 5.22: Tiroid karsinomunda (THCA) DEK1 izoformu ile benzer ifade gösteren genler. Pearson korelasyon katsayısı (PCC) değerleriyle gösterilmiştir.

Gen	**Pearson CC**
FAM175B	0.89
ZNF639	0.88
SP3	0.87
RNF38	0.87
THAP1	0.87
KCTD18	0.87
MATR3	0.87
RNF13	0.87
CDC40	0.87
CGGBP1	0.86

TCGA Pan-Kanser veri tabanından alınan tiroid karsinomunda (THCA) DEK1 izoformu ile benzer ifade gösteren genler gösterilmiştir (Tablo 5.22). Bu kanser türünde *FAM175B* geni DEK1 izoformu ile en yüksek oranda (pcc =0.89) pozitif korelasyon gösteren gen olarak bulunmuştur.

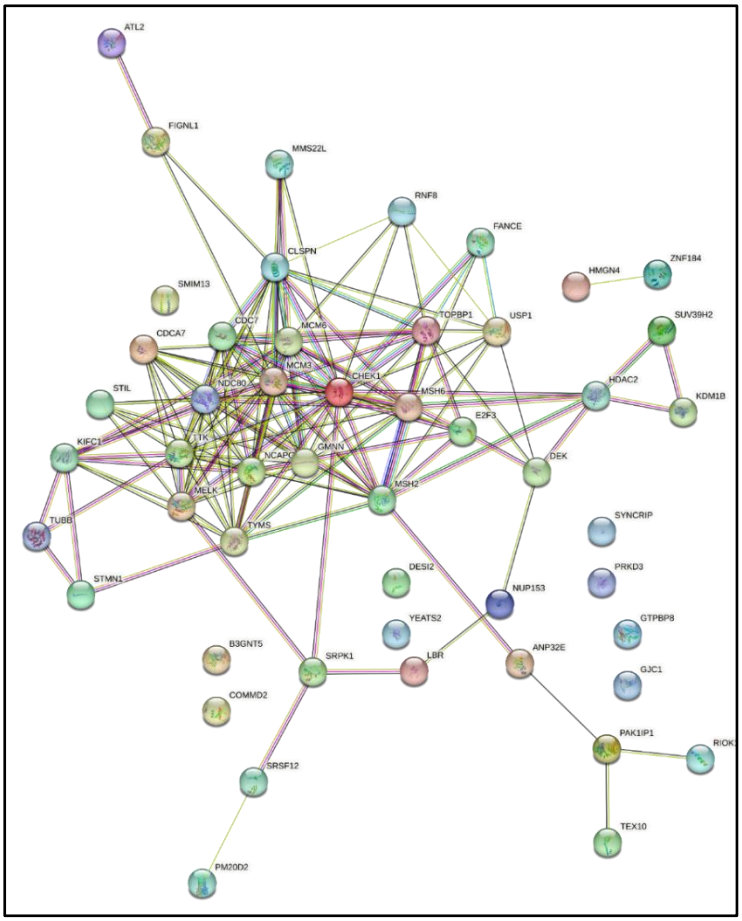
Tablo 5.23: Tiroid karsinomunda (THCA) DEK2 izoformu ile benzer ifade gösteren genler. Pearson korelasyon katsayısı (PCC) değerleriyle gösterilmiştir.

Gen	**Pearson CC**
BMPR1APS2	0.74
RP11-56G10.2	0.73
BIVM-ERCC5	0.73
RP11-449H3.3	0.72
TRIM44	0.72
PHC3	0.71
RGPD8	0.7
RP11-244H3.4	0.7
RSF1	0.7
ZBED6	0.7

TCGA Pan-Kanser veri tabanından alınan tiroid karsinomunda (THCA) DEK2 izoformu ile benzer ifade gösteren genler gösterilmiştir (Tablo 5.23). Bu kanser türünde *BMPR1APS2* geni DEK2 izoformu ile en yüksek oranda (pcc =0.74) pozitif korelasyon gösteren gen olarak bulunmuştur.

5.6 DEK1 ve DEK2 ile Pozitif Korelasyon Gösteren Genleri İçeren Sinyal Yolakların Analizi

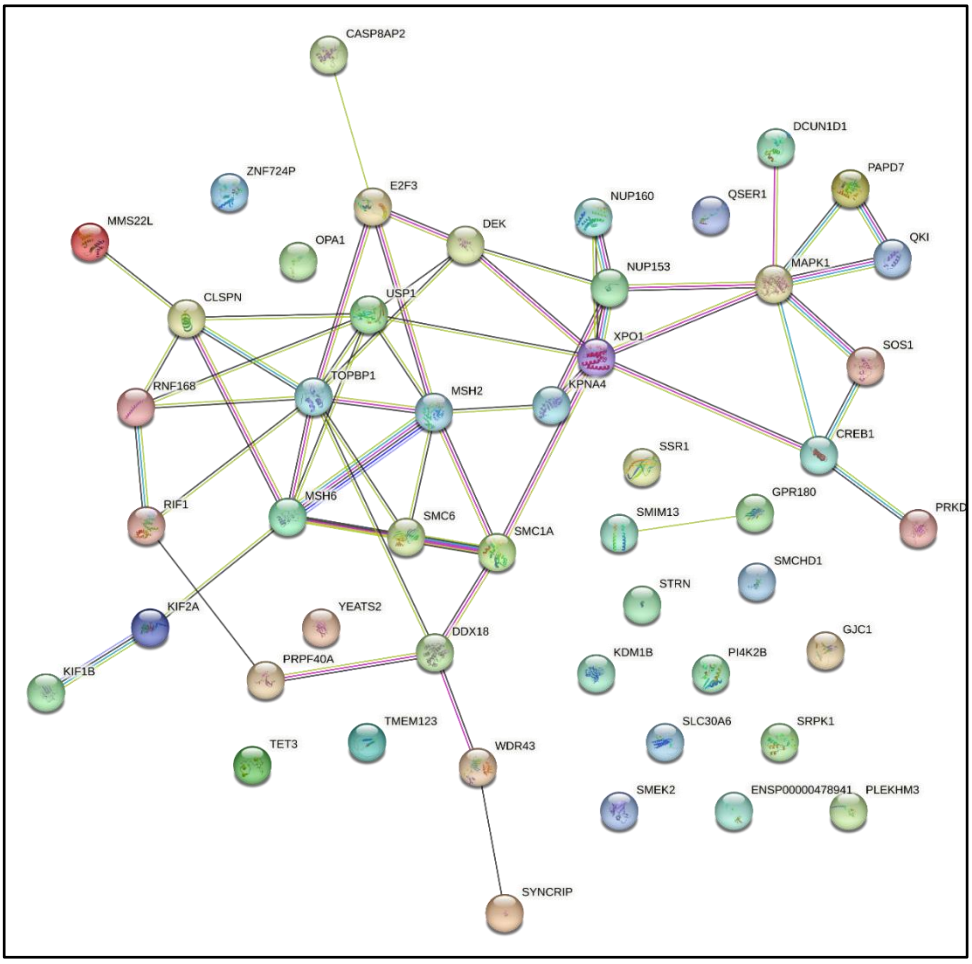
TCGA verileri kullanılarak elde edilen , göğüs kanserinde (BRCA), kolon adenokarsinomunda (COAD), böbrek kromofob hücreli karsinomunda (KICH), böbrek renal berrak hücreli karsinomunda (KIRC), böbrek papiller renal hücreli karsinomunda (KIRP), karaciğer hepatosellüler karsinomunda (LIHC), akciğer adenokarsinomunda (LUAD), akciğer skuamöz hücreli karsinomunda (LUSC), yumurtalık kanserinde (OV), prostat adenokarsinomunda (PRAD), ve tiroid karsinomunda (THCA) DEK1 ve DEK2 izoformları ile benzer ifade gösteren genleri içeren sinyal yolakları (signaling pathway) incelenmiş ve aşağıda gösterilmiştir (Şekil 5.36- 5.57). En yüksek oranda görülen sinyal yolakları tabloda gösterilmiştir (Tablo 5.24 – 5.45).



Şekil 5.36: Göğüs kanserinde (BRCA), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi.

Tablo 5.24: Göğüs kanserinde (BRCA), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları.

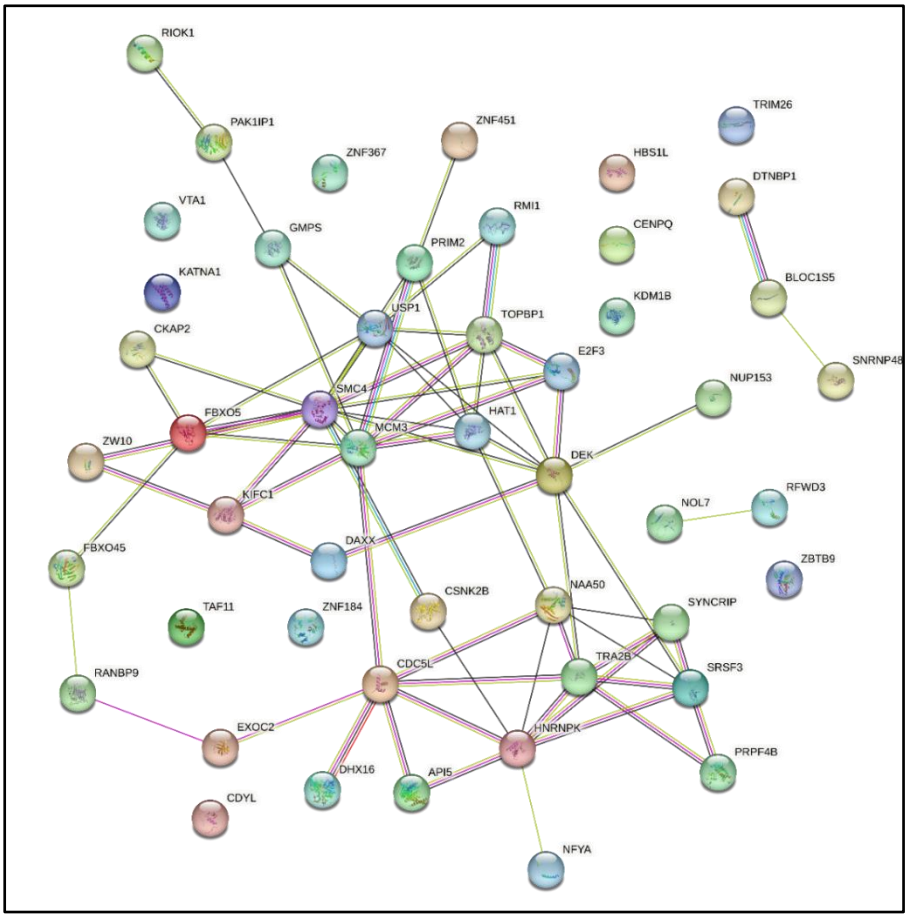
Terim tanımı	**Gen sayısı**	**P değeri**
Hücre döngüsü	16	1E-8
Replikasyon stresine yanıt olarak ATR'nin aktivasyonu	5	4.59E-7
G2/M Kontrol Noktaları	7	2.03E-6
Hücre Döngüsü, Mitotik	12	2.03E-6
Mitotik G1 fazı ve G1/S geçişi	7	4.7E-6



Şekil 5.37: Göğüs kanserinde (BRCA), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni sinyal yolağı analizi. Fonksiyonel protein ilişkilendirme ağları (STRING) çevrim içi aracı kullanılmıştır.

Tablo 5.25: Göğüs kanserinde (BRCA), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları.

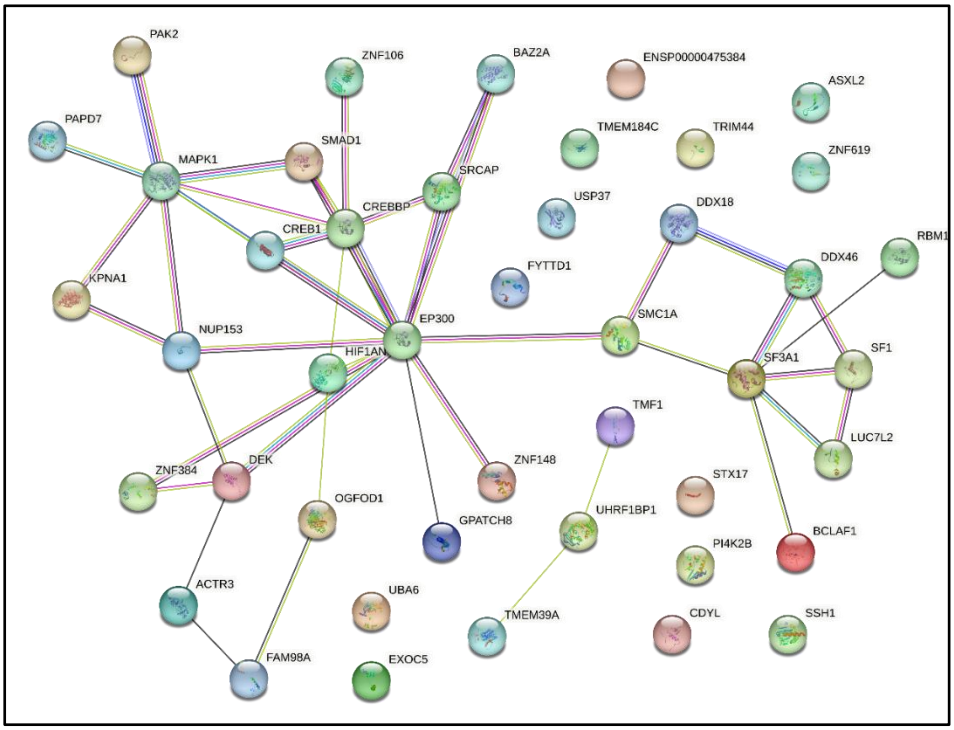
Terim tanımı	**Gen sayısı**	**P değeri**
SUMOlasyon	6	7E-5
Hücre döngüsü	10	2.74E-4
DNA Onarımı	7	4.37E-4
Gen ifadesi (Transkripsiyon)	13	1.77E-2
Hastalık	15	3.24E-2



Şekil 5.38: Kolon adenokarsinomunda (COAD), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi.

Tablo 5.26: Kolon adenokarsinomunda (COAD), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları.

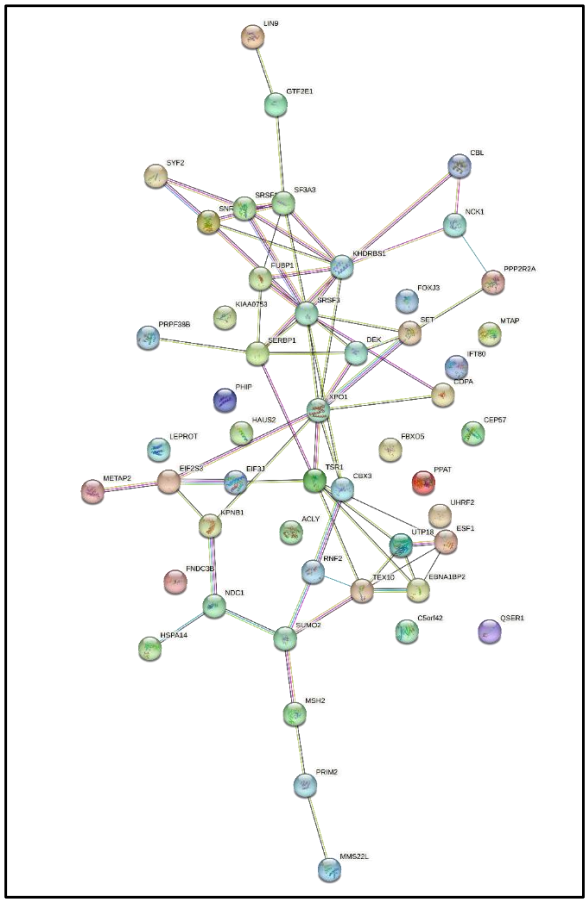
Terim tanımı	**Gen sayısı**	**P değeri**
Hücre döngüsü	13	8.35E-7
Başlıklı (capped) İntron İçeren Pre-mRNA'nın İşlenmesi	8	7.89E-6
mRNA Kırpılma	7	1.14E-5
Hücre Döngüsü, Mitotik	10	2.3E-3
RNA'nın metabolizması	10	4.55E-4



Şekil 5.39: Kolon adenokarsinomunda (COAD), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi.

Tablo 5.27: Kolon adenokarsinomunda (COAD), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları.

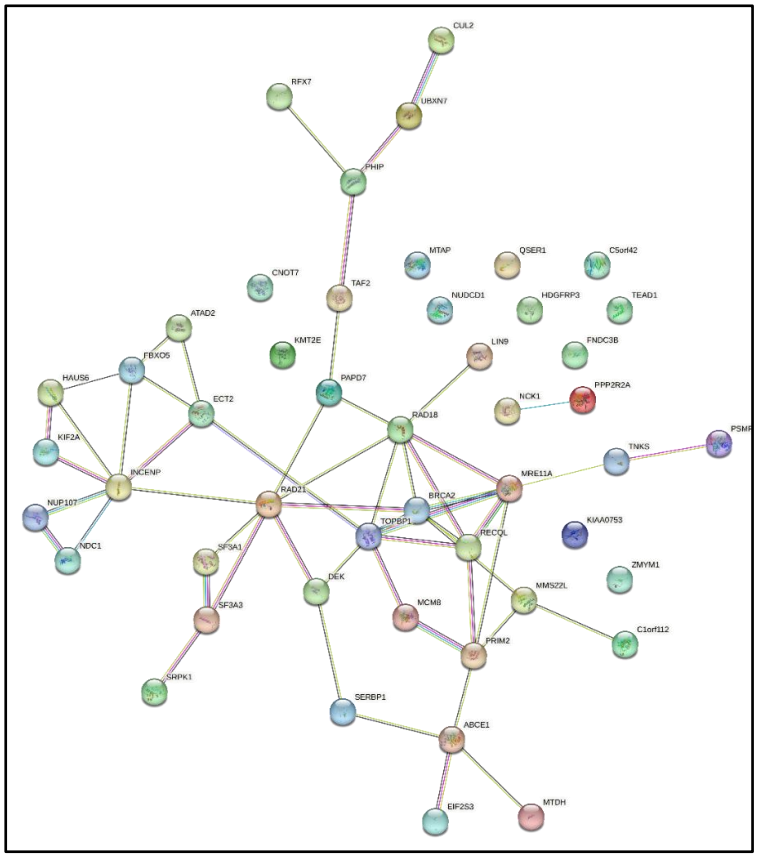
Terim tanımı	**Gen sayısı**	**P değeri**
ESR aracılı sinyalleşme	5	2E-3
SUMO E3 ligazların hedef proteinleri SUMOlasyonu	5	4.53E-4
SUMOlasyon	5	5.62E-4
Gen ifadesi (Transkripsiyon)	13	1.77E-2
RNA Polimeraz II Transkripsiyonu	11	3.44E-2



Şekil 5.40: Böbrek kromofob hücreli karsinomu (KICH) , DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi.

Tablo 5.28: Böbrek kromofob hücreli karsinomu (KICH), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları.

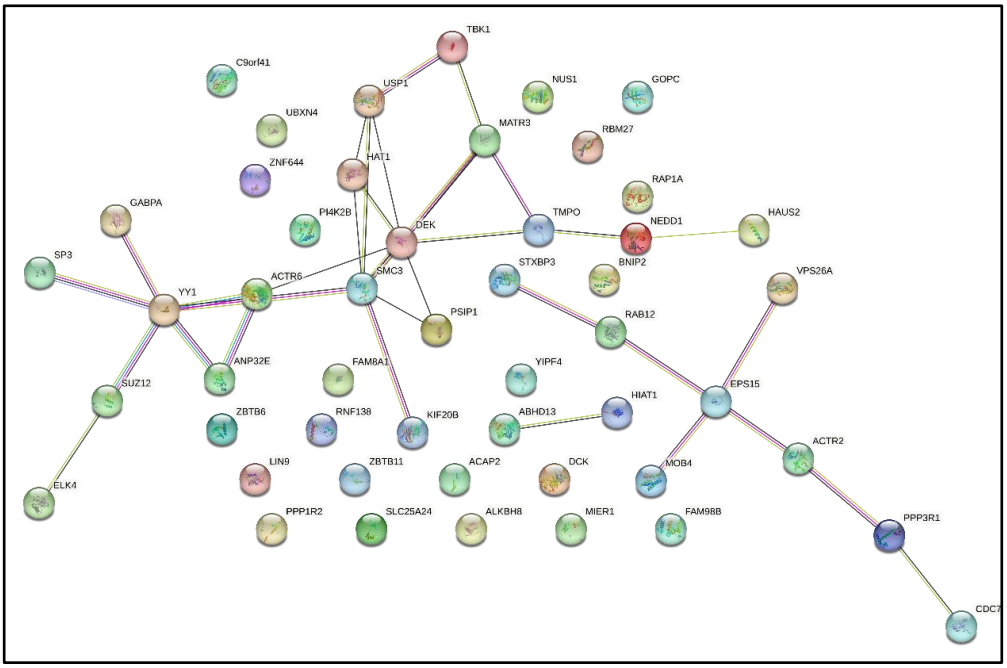
Terim tanımı	**Gen sayısı**	**P değeri**
RNA'nın metabolizması	13	8E-6
Hücre Döngüsü, Mitotik	11	1E-5
M Aşaması hücre döngüsü	8	1.38E-4
Kapaklı İntron İçeren Pre-mRNA'nın İşlenmesi	6	8.18E-4
Hücre döngüsü	11	6.59E-5



Şekil 5.41: Böbrek kromofob hücreli karsinomu (KICH), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi.

Tablo 5.29: Böbrek kromofob hücreli karsinomu (KICH), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları.

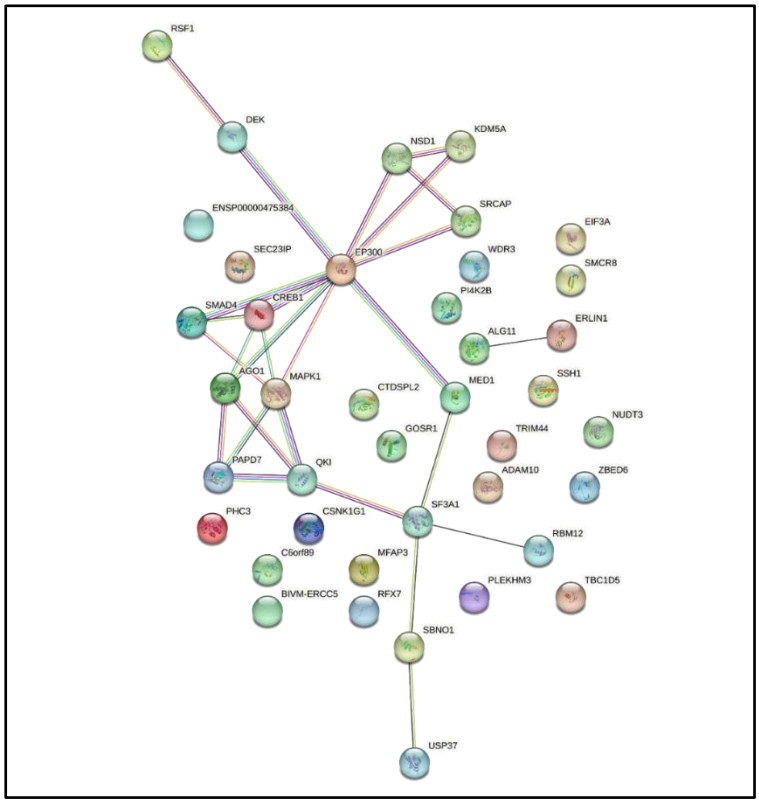
Terim tanımı	**Gen sayısı**	**P değeri**
Hücre döngüsü	16	2.35E-9
Hücre Döngüsü, Mitotik	13	9.96E-8
Mitotik Metafaz ve Anafaz	8	2.49E-6
Anafaz Mitotik G1 fazı ve G1/S geçişi	7	2.53E-6
M Aşaması hücre döngüsü	9	1.28E-5



Şekil 5.42: Böbrek böbrek renal berrak hücreli karsinomu (KIRC), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi.

Tablo 5.30: Böbrek böbrek renal berrak hücreli karsinomu (KIRC), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları.

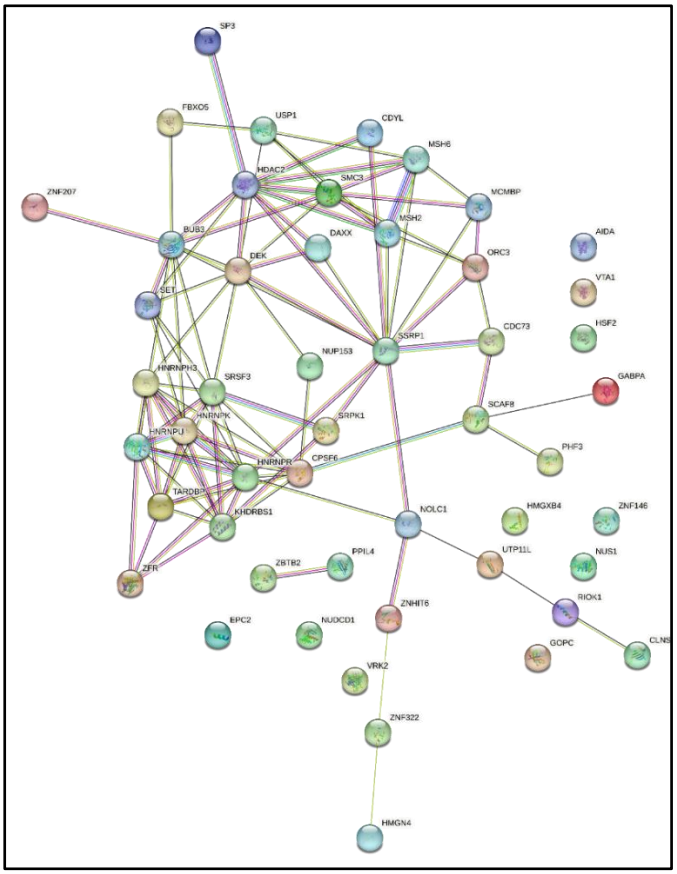
Terim tanımı	**Gen sayısı**	**P değeri**
Gen ifadesinin epigenetik regülasyonu	3	2.57E-2
AP-2 (TFAP2) transkripsiyon faktörleri ailesi tarafından transkripsiyonel düzenlenmesi	2	1.49E-2
SUMO E3 ligazlarının SUMOlasyonu hedef proteinleri	3	2.76E-2
SUMOlasyon	3	3.12E-2
Organel biyogenezi ve bakımı	4	3.23E-2



Şekil 5.43: Böbrek böbrek renal berrak hücreli karsinomu (KIRC), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi.

Tablo 5.31: Böbrek böbrek renal berrak hücreli karsinomu (KIRC), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları.

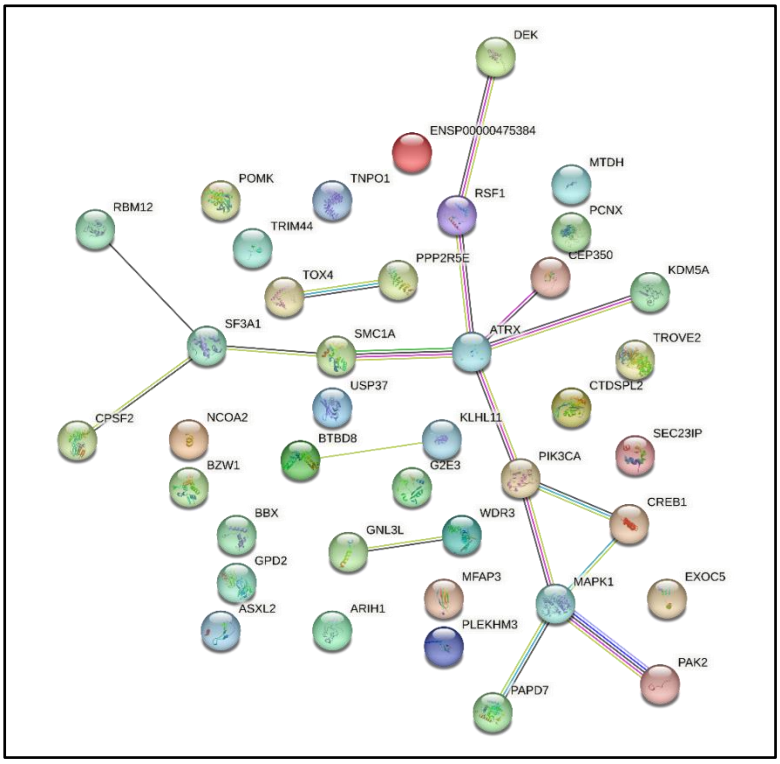
Terim tanımı	**Gen sayısı**	**P değeri**
ESR aracılı sinyalleşme	6	2.68E-4
NOTCH2 ile sinyal verme	3	3.35E-4
MECP2 ifadesinin ve aktivitesinin düzenlenmesi	3	3.61E-4
MECP2 tarafından Transkripsiyonel Düzenleme	4	4.27E-4
Oksidatif Strese Bağlı Yaşlanma	4	6.73E-4



Şekil 5.44: Böbrek papiller renal hücreli karsinomu (KIRP), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi.

Tablo 5.32: Böbrek papiller renal hücreli karsinomu (KIRP), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları.

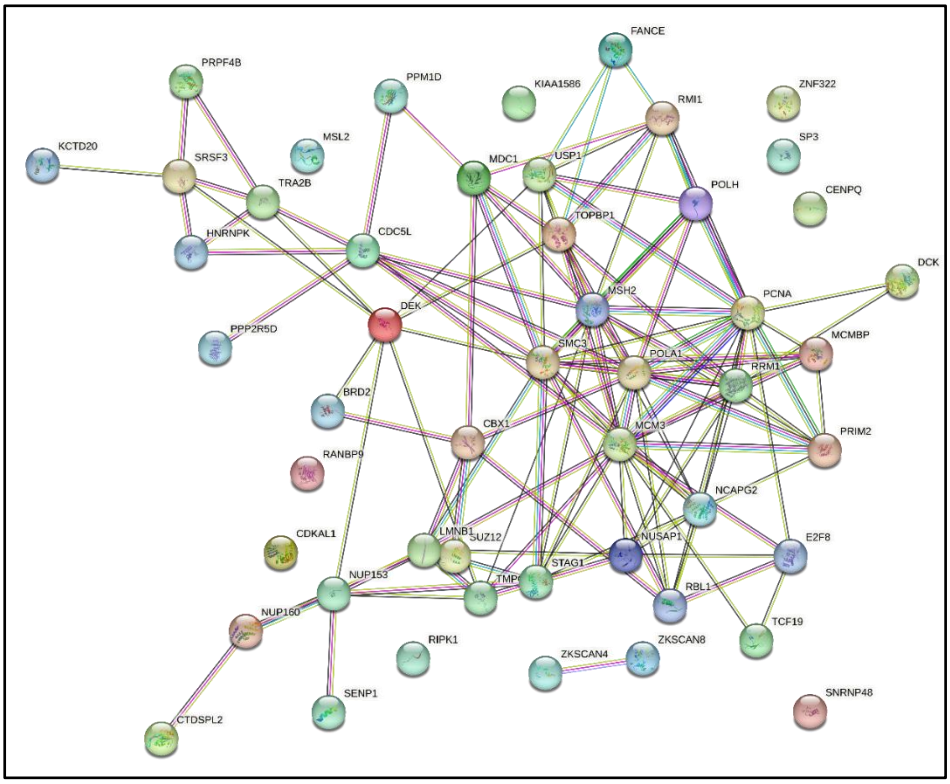
Terim tanımı	**Gen sayısı**	**P değeri**
Kapaklı İntron İçeren Pre-mRNA'nın İşlenmesi	8	1.59E-5
RNA'nın metabolizması	12	5.02E-5
SUMO E3 ligazlarının hedef proteinleri SUMOlasyonu	6	6.59E-5
Hücre döngüsü	9	1.57E-3
Hücre Döngüsü, Mitotik	8	1.66E-3



Şekil 5.45: Böbrek papiller renal hücreli karsinomu (KIRP), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi.

Tablo 5.33: Böbrek papiller renal hücreli karsinomu (KIRP), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları.

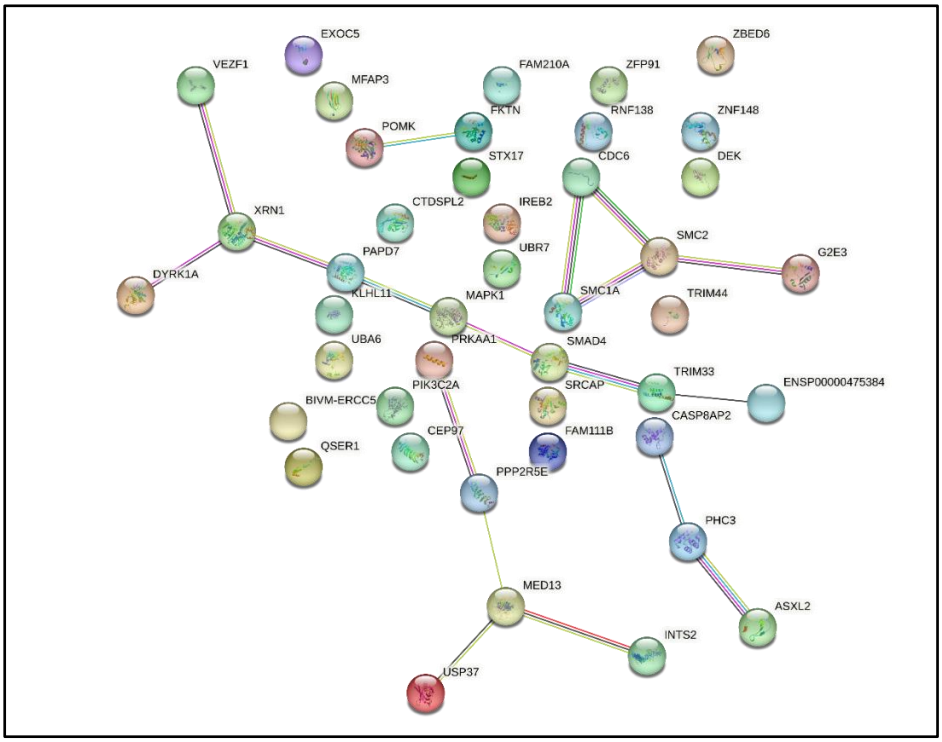
Terim tanımı	**Gen sayısı**	**P değeri**
ESR aracılı sinyalleşme	5	2E-3
Organel biyogenezi ve bakımı	5	6.48E-3
PKC ve MAPK aracılı Gastrin-CREB sinyalleşmesi	3	3.57E-3
Nükleer Reseptörler Tarafından Sinyal Verme	5	1.11E-2
Büyüme faktörü reseptörleri ve ikinci haberciler tarafından sinyal iletimi hastalıkları	5	2.97E-2



Şekil 5.46: Karaciğer hepatosellüler karsinomu (LIHC), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi.

Tablo 5.34: Karaciğer hepatosellüler karsinomu (LIHC), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları.

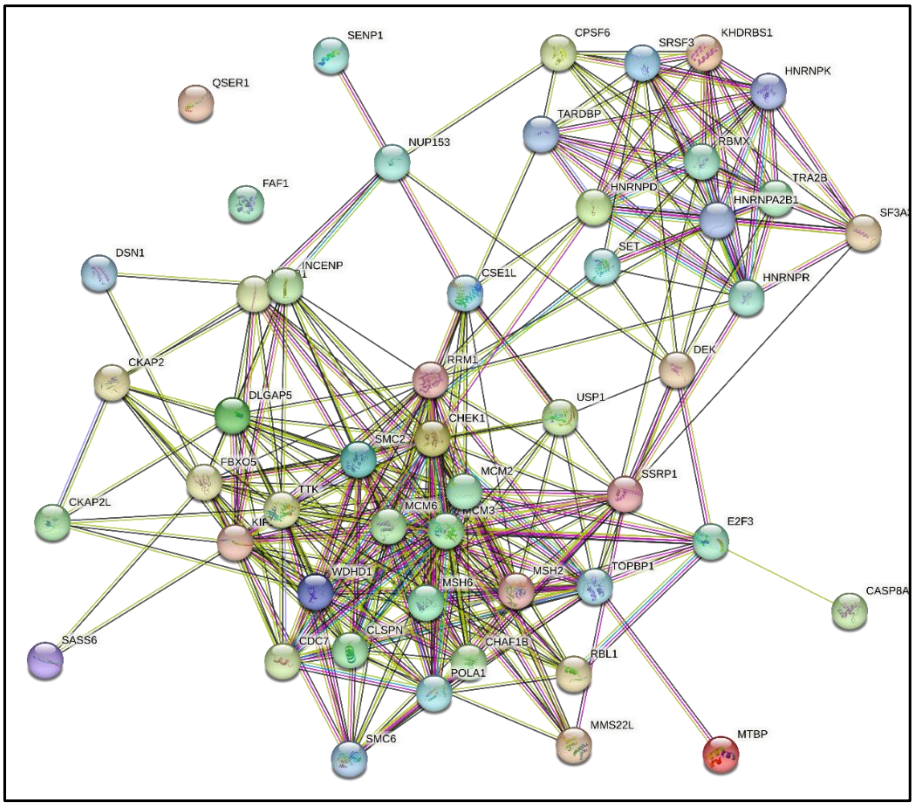
Terim tanımı	**Gen sayısı**	**P değeri**
Başlıklı İntron İçeren Pre-mRNA'nın İşlenmesi	13	1.59E-5
Hücre döngüsü	18	3.62E-10
Hücre Döngüsü, Mitotik	16	1.17E-9
Mitotik G1 fazı ve G1/S geçişi	9	3.47E-8
RNA'nın metabolizması	16	1.22E-7



Şekil 5.47: Karaciğer hepatosellüler karsinomu (LIHC), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi.

Tablo 5.35: Karaciğer hepatosellüler karsinomu (LIHC), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları.

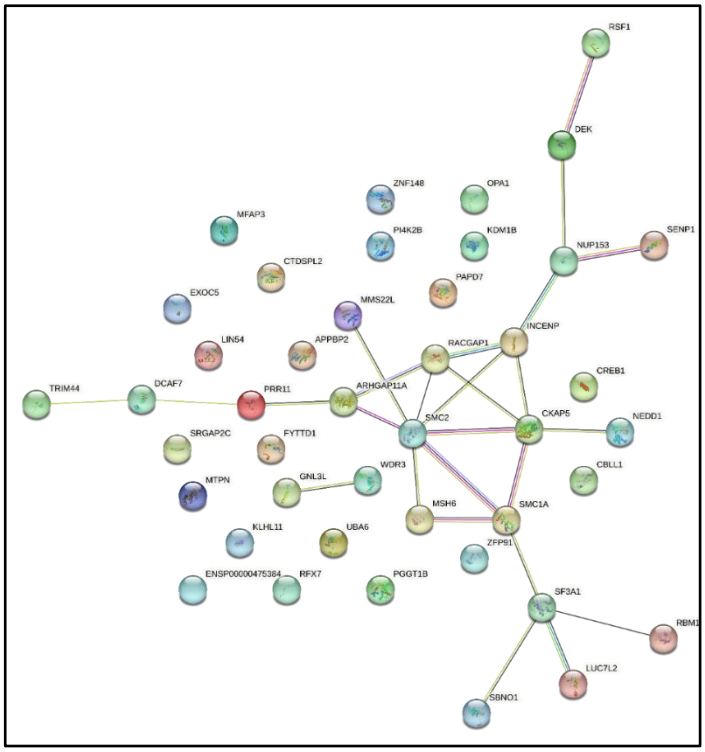
Terim tanımı	**Gen sayısı**	**P değeri**
MECP2, transkripsiyon faktörlerini düzenler	2	5.85E-4
SMAD2/3'ün aşağı regülasyonu: SMAD4 transkripsiyonel aktivitesi	3	2.99E-4
G0 ve Erken G1	3	2.99E-4
SMAD2/SMAD3:SMAD4 heterotrimerinin transkripsiyonel aktivitesi	3	1.34E-3
Hücre Döngüsü, Mitotik	7	3.63E-3



Şekil 5.48: Akciğer adenokarsinomu (LUAD), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi.

Tablo 5.36: Akciğer adenokarsinomu (LUAD), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları.

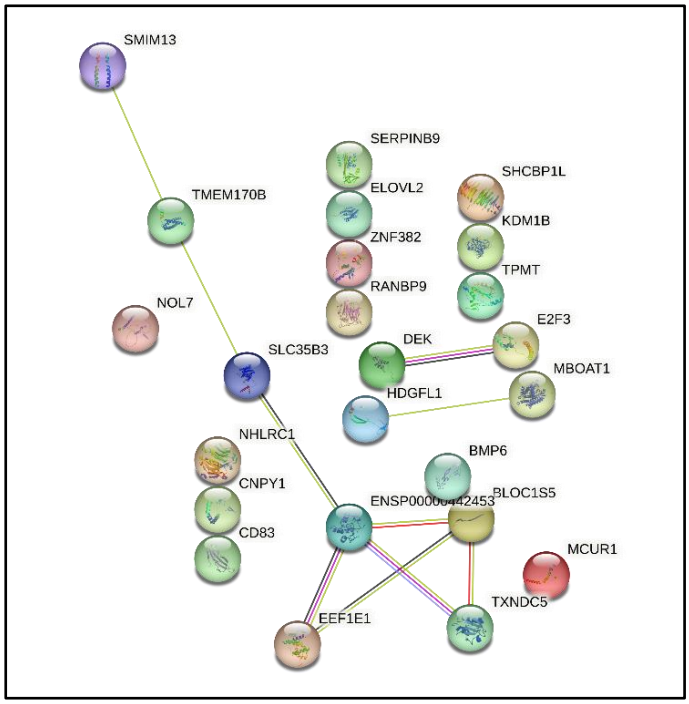
Terim tanımı	**Gen sayısı**	**P değeri**
Hücre döngüsü	18	1.77E-12
Mitotik G1 fazı ve G1/S geçişi	12	1.19E-11
Hücre Döngüsü, Mitotik	18	4.06E-11
Replikasyon stresine yanıt olarak ATR'nin aktivasyonu	7	4.53E-10
G1/S Geçişi	10	9.73E-10



Şekil 5.49: Akciğer adenokarsinomu (LUAD), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi.

Tablo 5.37: Akciğer adenokarsinomu (LUAD), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları.

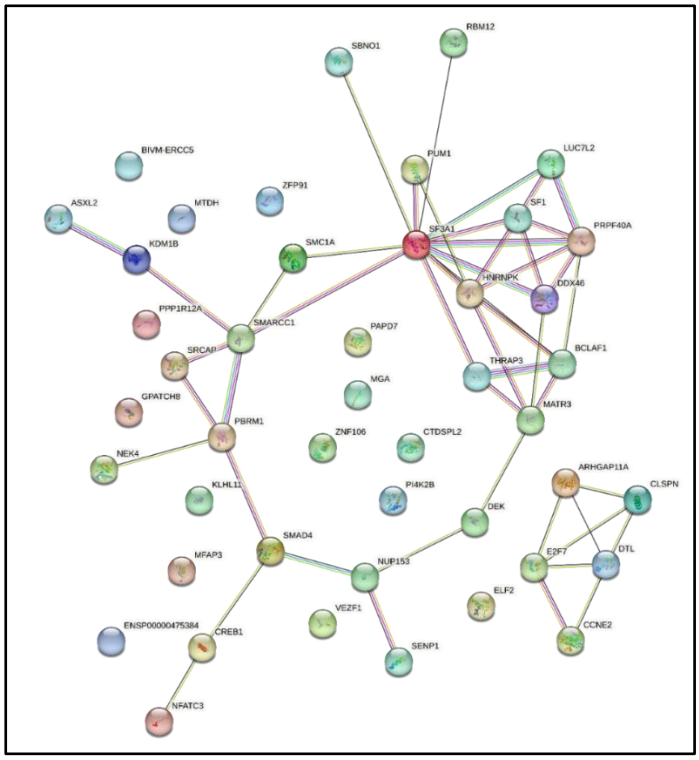
Terim tanımı	**Gen sayısı**	**P değeri**
Mitotik Prometafaz	5	7.85E-4
M Aşaması hücre döngüsü	6	2.9E-3
Hücre döngüsü	8	3.32E-3
Hücre Döngüsü, Mitotik	7	4.05E-3
SUMOlasyon	4	4.28E-3



Şekil 5.50: Akciğer skuamöz hücreli karsinomu (LUSC), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi.

Tablo 5.38: Akciğer skuamöz hücreli karsinomu (LUSC), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları.

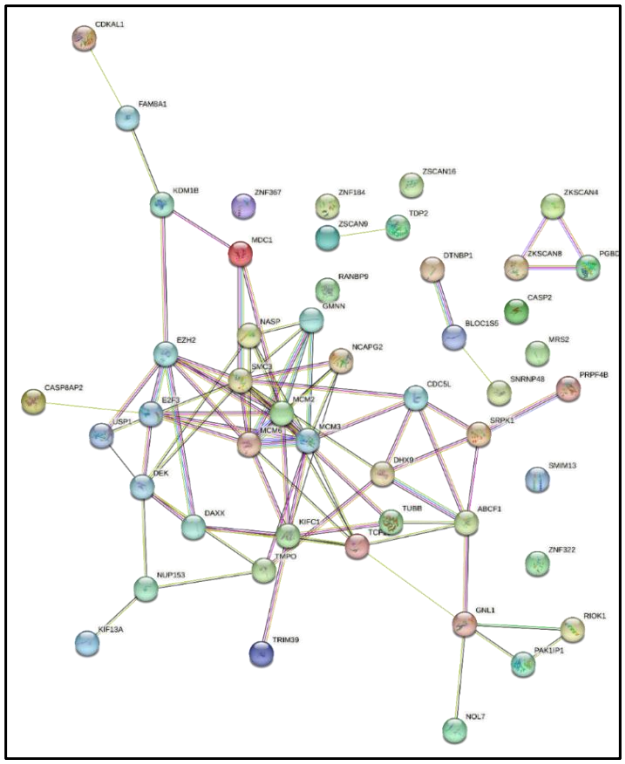
Terim tanımı	**Gen sayısı**	**P değeri**
Linoleik asit (LA) metabolizması	2	5.93E-4
Alfa -linolenik (omega3) ve linoleik (omega6) asit metabolizması	2	1.55E-3
Alfa -linolenik asit (ALA) metabolizması	2	1.55E-3
Çok uzun zincirli yağlı asil-CoA'ların sentezi	2	5.11E-3
Yağ asil-CoA biyosentezi	2	1.23E-2



Şekil 5.51: Akciğer skuamöz hücreli karsinomu (LUSC), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi.

Tablo 5.39: Akciğer skuamöz hücreli karsinomu (LUSC), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları.

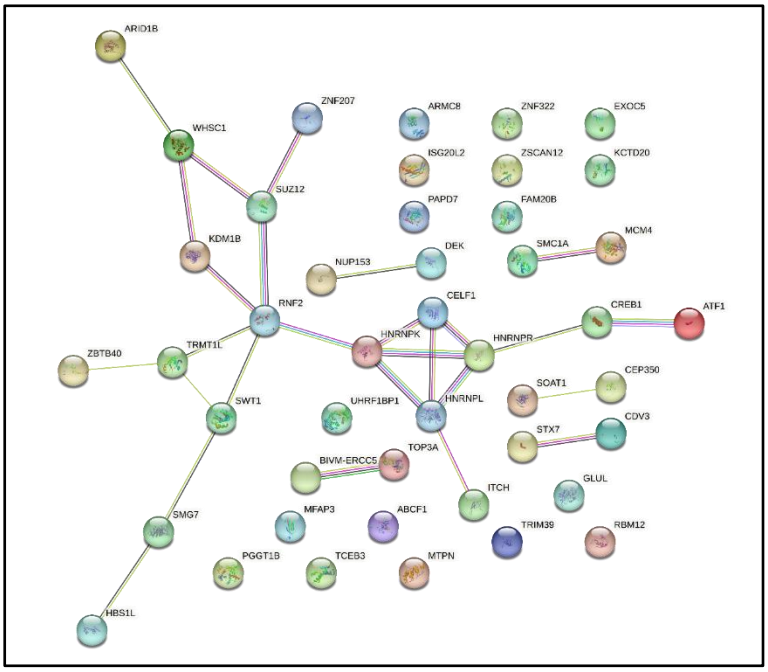
Terim tanımı	**Gen sayısı**	**P değeri**
SUMOlasyon	5	6.67E-4
Kapaklı İntron İçeren Pre-mRNA'nın İşlenmesi	6	7.42E-4
mRNA Kırpılma - Ana Yol	5	1.06E-3
mRNA Kırpılma	5	1.32E-3
Genel Transkripsiyon Yolları	12	1.02E-2



Şekil 5.52: Yumurtalık kanseri (OV), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi.

Tablo 5.40: Yumurtalık kanseri (OV), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları.

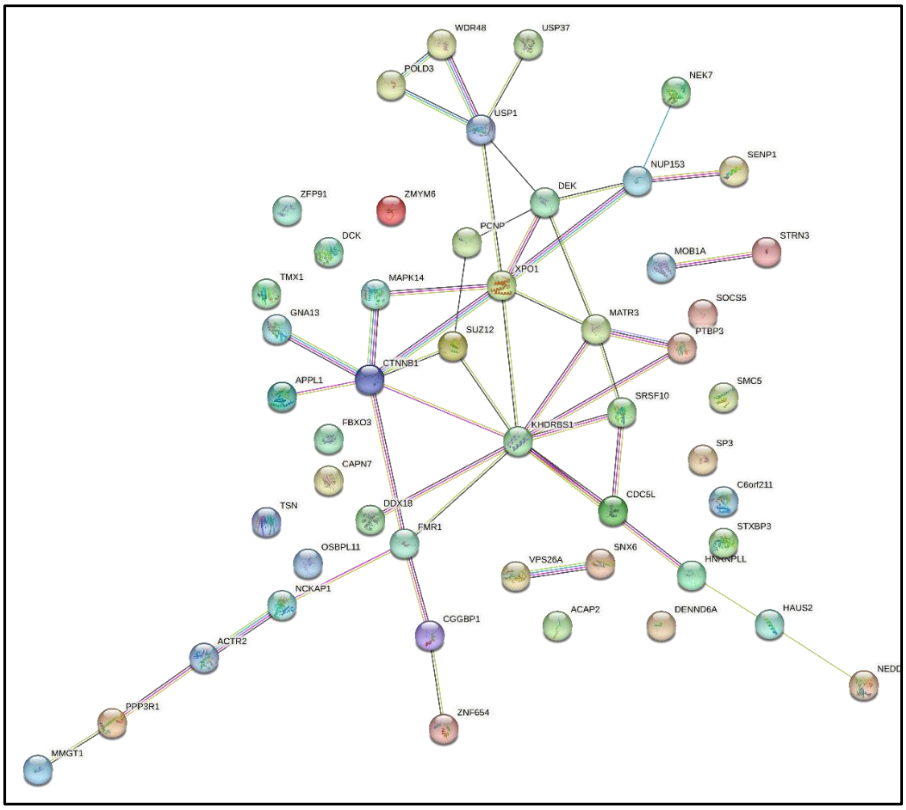
Terim tanımı	**Gen sayısı**	**P değeri**
Pre-replikatif kompleksin aktivasyonu	5	2.37E-7
Hücre döngüsü	13	1.67E-6
Hücre Döngüsü, Mitotik	11	8.14E-6
Mitotik G1 fazı ve G1/S geçişi	6	4.07E-5
S Aşaması hücre döngüsü	6	4.76E-5



Şekil 5.53: Yumurtalık kanseri (OV), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi.

Tablo 5.41: Yumurtalık kanseri (OV), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları.

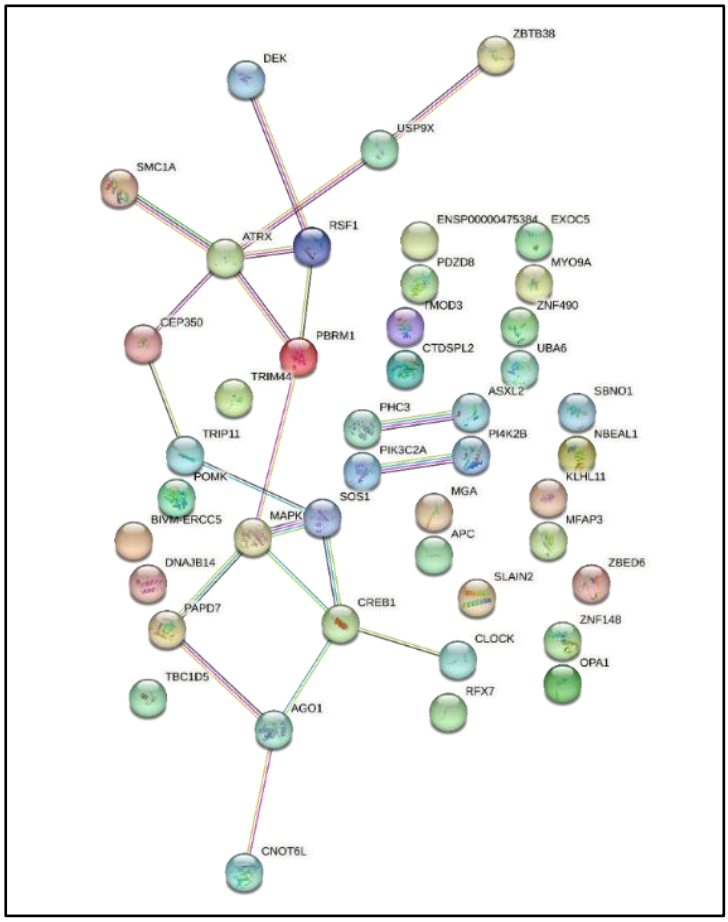
Terim tanımı	**Gen sayısı**	**P değeri**
SUMO E3 ligazlarının hedef proteinleri SUMOlasyonu	5	4.53E-4
SUMOlasyon	5	5.62E-4
Kromatin organizasyonu	4	1.2E-2
RNA'nın metabolizması	7	2.48E-2
Gen ifadesi (Transkripsiyon)	11	6.47E-2



Şekil 5.54: Prostat adenokarsinomu (PRAD), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi.

Tablo 5.42: Prostat adenokarsinomu (PRAD), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları.

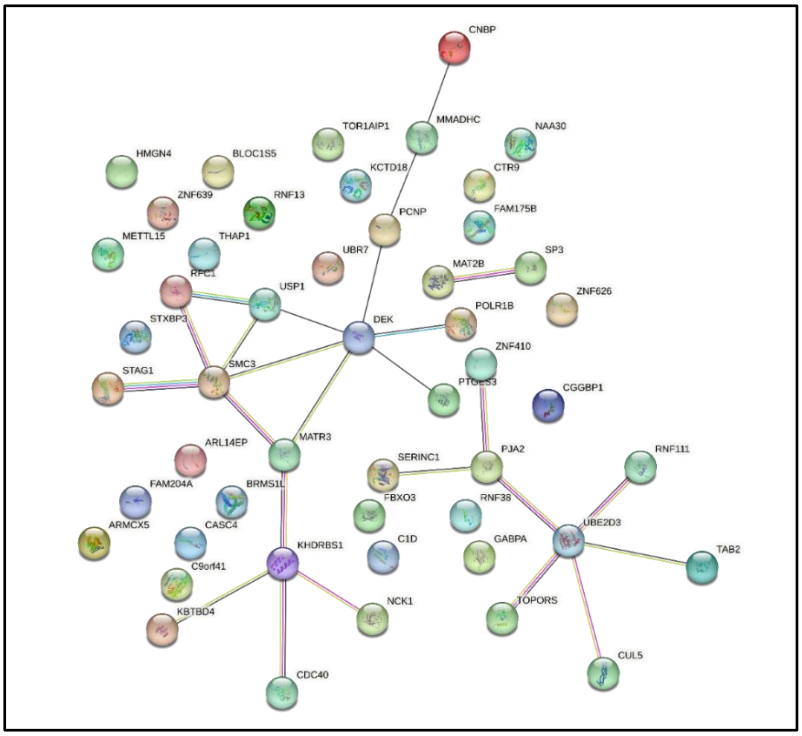
Terim tanımı	Gen sayısı	P değeri
SUMOlasyon	5	5.14E-4
Rho GTPazlar tarafından sinyal verme	8	2.69E-3
Rho GTPazlar, Miro GTPazlar ve RHOBTB3 tarafından sinyalizasyon	8	3.08E-3
RHO GTPaz Efektörleri	5	5.08E-3
M Aşaması hücre döngüsü	5	1.37E-2



Şekil 5.55: Prostat adenokarsinomu (PRAD), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi.

Tablo 5.43: Prostat adenokarsinomu (PRAD), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları.

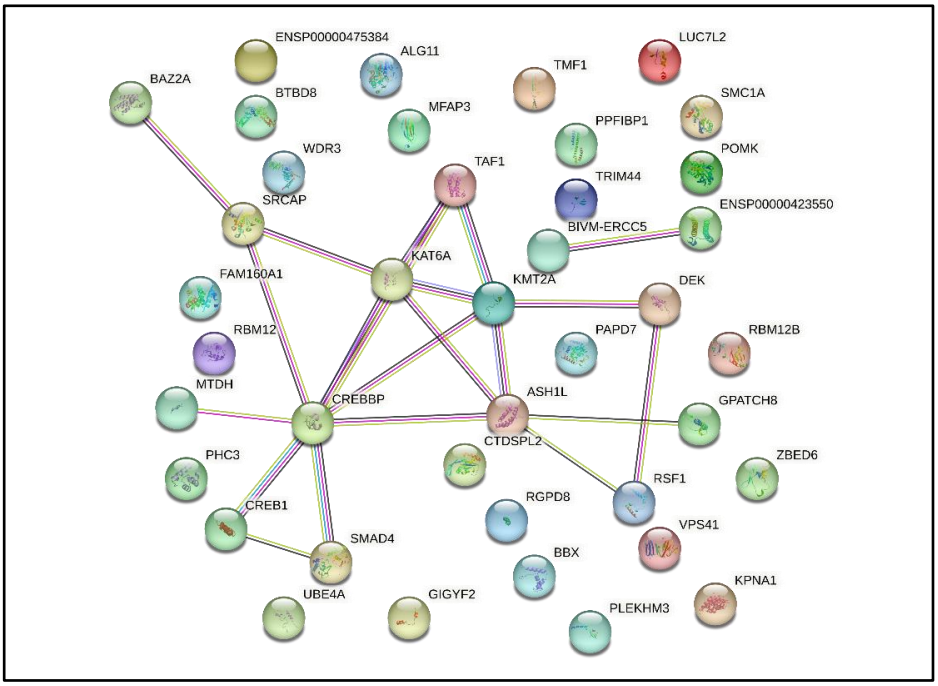
Terim tanımı	Gen sayısı	P değeri
Küçük RNA'lar tarafından transkripsiyon sonrası susturulma	5	3.11E-4
PIP3, AKT sinyalini etkinleştirir	6	1.07E-3
İkinci haberciler tarafından hücre içi sinyalleşme	6	2.13E-3
RNA Polimeraz II Transkripsiyonu	12	1.93E-2
Genel Transkripsiyon Yolları	11	2.54E-2



Şekil 5.56: Tiroid karsinomu (THCA), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi.

Tablo 5.44: Tiroid karsinomu (THCA), DEK1 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları.

Terim tanımı	**Gen sayısı**	**P değeri**
Antijen işleme: Ubiquitinasyon & Proteazom degradasyonu	6	1.07E-3
Sınıf I MHC aracılı antijen işleme	6	4.07E-3
SUMO E3 ligazlarının hedef proteinleri SUMOlasyonu	4	4.72E-3
SUMOlasyon	4	5.58E-3
Adaptif Bağışıklık Sistemi	8	2.06E-2



Şekil 5.57: Tiroid karsinomu (THCA), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolağı analizi.

Tablo 5.45: Tiroid karsinomu (THCA), DEK2 izoformu ile benzer ekspresyon ifadesi gösteren, korelasyon değeri en yüksek 50 geni içeren sinyal yolakları.

Terim tanımı	**Gen sayısı**	**P değeri**
Kromatin modifiye eden enzimler	4	1.36E-2
Kromatin organizasyonu	4	1.36E-2
Büyüme faktörü reseptörleri ve ikinci haberciler tarafından sinyal iletimi hastalıkları	5	3.41E-2
Genel Transkripsiyon Yolları	10	5.7E-2
Gen ifadesi (Transkripsiyon)	11	8.06E-2

6. TARTIŞMA

Tümör gelişim süreçlerinde önemli rolü olan alternatif kırpılma, tek bir genden çoklu mRNA varyantlarının ve protein ürünlerinin üretilmesini sağlar [Bonnal et al., 2020]. DEK, kromatinin düzenlenmesinde önemli işlevleri olan nükleer bir proteindir [Riveiro-Falkenbach et al.,2010]. Bu gen birçok kötü huylu tümörde yüksek ifade edildiği için tümör biyobelirteci olarak tanımlanmıştır [Ishida et al., 2020]. *DEK* geninin bilinen 2 farklı izoformu bulunmaktadır: DEK izoform-1 (DEK1) ve DEK izoform-2 (DEK2). DEK2 izoformunda 49-82 aminoasitleri arasındaki sekans bulunmamaktadır. Bu izoformların kanser üzerine etkileri yapılan in-vitro çalışmalarla incelenmiştir. Ancak literatürde, DEK1 ve DEK2 izoformlarının kanser türlerindeki ifadeleri ve bu ifadelerin hasta sağkalımı üzerine etkileri çevrim içi araçlar kullanılarak incelenmemiştir.

Literatürde zebra balığında *DEK* geni ve izoformları ile ilgili yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Bu amaçla bu tez çalışmasında, zebra balığı *DEK* genine özgü primerler tasarlanmış ve bu genin ifadesine bakılmıştır. Bu analiz sonucunda, primer set 2 ile yapılan RT-qPCR analizi sonucunda 96. saatte toplanan örneklerde 24. saatte toplanan örneklere göre 5 katın üzerinde artış olduğu görüldü ancak istatiksel olarak anlamlı bir fark değildir. *DEK* geninin ifadesinde farklı gelişim evrelerindeki örnekler arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark belirlenememiştir. Deney sonucunda biyolojik replikaların erime sıcaklığı değerlerinde (melting temperature) farklılıklar gözlenmiştir. Zebra balığında DEK1 ve DEK2 izoform ifadesinin bulunması ileride zebra balığında yapılacak kanser çalışmaları için büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle bu deneyin daha fazla örnek ile tekrarlanması gerekmektedir.

Hepatoselüler karsinoma hücrelerinde yapılan bir çalışma ile DEK2'nin yüksek ifadesinin hücre çoğalmasını arttırdığı ancak DEK1'in daha fazla arttırdığı görülmüştür [Yu et al., 2016]. Bu durum DEK2 izoformunda bulunmayan 49-82 aminoasitleri arasındaki ekzonun hücre çoğalmasında fonksiyonu olabileceğini düşündürmektedir. DEK1 ve DEK2 izoformlarının ifadelerinin kanser türlerinde korelasyon gösterip göstermediğine dair bir çalışma literatürde bulunmamaktadır. Bu amaçla bu çalışmada, DEK1 ve DEK2 mRNA ifadelerinin kanser hücre hatlarında korelasyonunu analiz etmek için Kanser Hücre Hattı Kütüphanesi (CCLE) verileri elde edildi. Bu analiz ile göğüs kanseri, böbrek kanseri, akciğer kanseri, yumurtalık kanseri,

tiroit kanseri hücre hatlarında DEK1 ve DEK2 mRNA ifadelerinde korelasyon olduğu görüldü. Kolon kanseri, karaciğer kanseri, prostat kanseri hücre hatlarında ise DEK1 ve DEK2 mRNA ifadelerinde korelasyon görülmedi.

DEK1 mRNA ifadesinin yüksek seviyeleri, glioblastoma, melanom, meme kanseri, yumurtalık kanseri ve hepatoselüler karsinom gibi çok sayıda kötü huylu tümör ile ilişkilendirilmiştir [Ishida et al., 2020]. DEK2 izoformunun varlığı ilk olarak mesane kanseri hastası idrarında gösterilmiş ve DEK2'nin varlığı mesane kanseri ile ilişkilendirilmiştir [Datta et al., 2011]. Yine bu çalışmayla, Kanser Genom Atlası (TCGA) primer tümör ve normal dokulardaki DEK1 ve DEK2'nin farklı kanser türlerinde ekspresyon seviyeleri araştırılmıştır. Bu amaçla, göğüs kanseri, kolon adenokarsinomu, böbrek kromofob hücreli karsinomunda, böbrek renal berrak hücreli karsinomunda, böbrek papiller renal hücreli karsinomunda, karaciğer hepatosellüler karsinomunda, akciğer adenokarsinomunda, akciğer skuamöz hücreli karsinomunda yumurtalık kanserinde, prostat adenokarsinomunda ve tiroid karsinomunda DEK1 ve DEK2 mRNA ifadelerini primer tümör doku ve normal doku verilerinde karşılaştırmak için Kanser Genom Atlası (TCGA) verileri elde edildi. Karaciğer hepatosellüler karsinomunda, akciğer skuamöz hücreli karsinomunda, akciğer adenokarsinomunda, kolon adenokarsinomu, böbrek kromofob hücreli karsinomunda primer tümör dokularda normal dokulara oranla DEK1 mRNA ifadesinin yüksek ifade edildiği görüldü. Akciğer skuamöz hücreli karsinomunda primer tümör dokularda normal dokulara oranla DEK2 mRNA ifadesinin istatiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edildi.

DEK 'in gastrik adenokarsinomada, kolorektal kanserde, küçük hücreli akciğer kanserinde, kötü prognoz gösterdiği sağkalım grafikleriyle gösterilmiştir [Piao et al., 2014], [Lin et al.,2013], [Wang et al., 2014]. Çalışmanın bir diğer amacı, kanser türlerinde DEK1 ve DEK2 izoformlarının hasta sağkalımlarına olan etkisini incelemektir. Bu amaçla, Kaplan-Meier (K-M) grafikleri gen ifadesi profilleme etkileşimli analiz (GEPIA2) aracı kullanılarak elde edildi. Göğüs kanserinde, kolon adenokarsinomunda, yumurtalık kanserinde, akciğer skuamöz hücreli karsinomunda, akciğer adenokarsinomunda, K-M grafiğine bakıldığında DEK1 ve DEK2 izoformlarının medyan ifadesinden daha yüksek veya daha düşük ifadelere sahip olduğu örnekler arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi. Böbrek kromofob hücreli karsinomunda, böbrek renal berrak hücreli karsinomunda, böbrek renal berrak hücreli karsinomunda, K-M grafiklerine bakıldığında DEK1 izoformunun

medyan ifadesinden daha düşük ifadelere sahip olduğu örnekler arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark bulunurken DEK2 için görülmemiştir. DEK1'in medyan ifadesinden daha düşük ifadelere sahip olduğu örneklerde sağkalım oranının daha yüksek olduğu görüldü. Prostat adenokarsinomunda, tiroid karsinomunda, K-M grafiğine bakıldığında proteininin medyan ifadesinden daha yüksek veya daha düşük ifadelere sahip olduğu örnekler arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir. DEK1'in medyan ifadesinden daha düşük ifadelere sahip olduğu örneklerde sağkalım oranının daha yüksek olduğu görüldü.

Bu çalışma ile, TCGA Pan-Kanser (TCGA-PANCAN) primer tümör örneklerinde *DEK* gen ifadesi ile korelasyon gösteren genleri bulmak için, gen ifadesi profilleme etkileşimli analiz (GEPIA2) aracı kullanıldı. Analiz sonucunda belirlediğimiz *E2F3, NUP153, RBM12, PHIP, USP1, HDAC2, RANBP9, USP37, PAPD7, FAM175B, GLUL, SNX6* en yüksek pozitif korelasyon gösteren genler olarak bulunmuştur. Bu genlerden *E2F3*, bir grup transkripsiyon faktörünü kodlar ve bu genin yüksek kopya sayısı göğüs kanseri, kolorektal kanser, tiroid gibi bir dizi insan kanserinde gözlemlenmiştir [Huang et al., 2022]. Bu genin göğüs kanserinde, DEK1 izoformu ile pozitif korelasyon gösterdiği görüldü (Şekil 5.24A). *NUP153* geni ise, nükleer gözenek kompleksleri kümesinin önemli bir bileşenidir ve tümör hücrelerinde hücre göçü için gerekli olduğu daha önceki çalışmalarda görülmüştür [Zhou and Panté ,2010]. Bu genin göğüs kanserinde DEK2 izoformu, kolon adenokarsinomunda DEK1 izoformu, karaciğer hepatosellüler karsinomunda DEK1 izoformu, akciğer adenokarsinomunda DEK1 izoformu, yumurtalık kanserinde DEK1 izoformu ile benzer ifade gösterdiği görülmüştür (Şekil 5.24B, Şekil 5.25A, Şekil 5.29A, Şekil 2.30A, Şekil 5.32A). Bir diğer gen olan *RBM12* (RNA Bağlanma Motif Protein 12) birkaç RNA bağlama motifi, potansiyel transmembran alanları ve prolin açısından zengin bölgeler içeren bir geni kodlar. Meibomian hücre karsinomasında yüksek ifade edildiği görülmüş olup tümör oluşumunda rol oynadığı düşünülmektedir [Kumar et. al.,2007]. Bu genin kolon adenokarsinomunda DEK2 izoformu ile benzer ifade gösterdiği görülmüştür (Şekil 5.25B). *PHIP* geninin, fokal adezyon kompleksini düzenleyerek glioblastoma hareketliliğini ve istilasını yönlendirdiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [de Semir et al., 2020]. Bu genin ise böbrek kromofob hücreli karsinomunda DEK1 izoformu ile benzer ifade gösterdiği görülmüştür (Şekil 5.26A). *RFX7*, düzenleyici faktör X (RFX) transkripsiyon faktörleri ailesinin bir üyesidir. *RFX7'in* mRNA seviyesinin, normal dokuya kıyasla mide adenokarsinoma

dokusunda önemli ölçüde yüksek olduğu görülmüştür [Guo and Liu, (2022]. Böbrek kromofob hücreli karsinomda DEK2 izoformu ile benzer ifade gösterdiği görülmüştür (Şekil 5.26B). *USP1* geni, ubikuitin uzaklaştıran bir enzimi kodlar ve DNA hasar onarımının negatif düzenleyicisidir [Wang et al., 2022]. Bu genin kanserlerde yüksek ifade edildiği bildirilmiştir ve hücre proliferasyonu, apoptoz ve hücre farklılaşması gibi çeşitli hücresel süreçlerin düzenlenmesinde kritik bir rol oynadığı görülmüştür [Wang et al., 2022]. Böbrek kromofob hücreli karsinomunda DEK2 izoformu ile benzer ifade gösterdiği görülmüştür (Şekil 5.27A)**.** *RP11-449H3.3* tanımlanmamış bir proteindir. Böbrek renal berrak hücreli karsinomunda DEK1 izoformu ile benzer ifade gösterdiği görülmüştür (Şekil 5.27B, Şekil 5.30B, 5.31B)**.** İncelenen bir diğer gen *HDAC2* geni, transkripsiyonel düzenleme, hücre döngüsü ilerlemesi ve gelişimsel olaylarda önemli bir rol oynar ve pankreas kanseri metastazı ile ilişkilendirilmiştir [Krauß et al.,2022]. Bu genin de böbrek renal berrak hücreli karsinomunda DEK2 izoformu ile benzer ifade gösterdiği görülmüştür (Şekil 5.28A)**.** *RP11-544M22.13* tanımlanmamış bir proteindir ve bu çalışmada böbrek papiller renal hücreli karsinomunda DEK1 izoformu ile benzer şekilde ifade gösterdiği görülmüştür (Şekil 5.28B). *USP37* geni ubiquitin uzaklaştırma yoluyla DNA hasarı tepkisini düzenler ve DNA replikasyonunun düzenlenmesinde görev alır [Hong et al., 2020]. İfadesinin azaldığı durumlarda kanser hücrelerinde çoğalmasının ve göçünün arttığı görülmüş olup bu çalışmada da karaciğer hepatosellüler karsinomunda DEK2 izoformu ile benzer ifade gösterdiği görülmüştür [Hong et al., 2020] (Şekil 5.29B)**.** *RANBP9* daha önce hücre proliferasyonu, hayatta kalma, apoptoz ve göç ile ilişkilendirilmiştir. *RANBP9*'un ekspresyon seviyesi, meme kanseri dokularında yüksektir ve meme kanseri hastalarında kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir [Meng et al., 2022]. Karaciğer hepatosellüler karsinomunda DEK1 izoformu ile benzer ifade gösterdiği görülmüştür (Şekil 5.31A). *GLUL* geni ATP'ye bağlı bir reaksiyonda glutamat ve amonyaktan glutamin sentezini katalize eder. Hepatoselüler karsinomda bu genin yüksek ifade edildiği görülmüştür ve bu çalışmada da karaciğer hepatosellüler karsinomunda DEK2 izoformu ile benzer ifade gösterdiği görülmüştür (Şekil 5.32B). Bir diğer gen olan *SNX6*'nın, epitelyal-mezenkimal geçişi aktive ederek pankreas kanseri hücrelerinin metastazına katkıda bulunduğu görülmüştür [Hu et al., 2018]. Prostat adenokarsinomunda DEK1 izoformu ile benzer ifade gösterdiği görülmüştür (Şekil 5.33A). *PAPD7* geni tarafından kodlanan proteinin DNA onarımında yer alan bir DNA

polimerazdır ve bu çalışmada prostat adenokarsinomunda DEK1 izoformu ile benzer ifade gösterdiği görülmüştür (Şekil 5.33B). *FAM175B* geni, bir p53 geni düzenleyicisidir ve göğüs kanseri, glioblastoma, yemek borusu skuamöz hücreli karsinom gibi çok sayıda kanser türünde tümör oluşumunu baskıladığı görülmüştür [Zhao et al., 2019]. Bu genin tiroid karsinomunda DEK1 izoformu ile benzer ifade gösterdiği görülmüştür (Şekil 5.34A). *BMPR1APS2* geni ile ilgili literatürde çalışma bulunmamaktadır. Ancak bu genin tiroid karsinomunda DEK2 izoformu ile benzer ifade gösterdiği görülmüştür (Şekil 5.34B). Ayrıca bu genleri içeren sinyal yolakları ortaya çıkarılmıştır ve bu yolakların tümör oluşumunda yer alan hücre döngüsü, DNA hasar tamiri, sumolasyon gibi çeşitli hücresel fonksiyonlarının bulunduğu görülmüştür. Yapılan çalışmalarda DEK'in hücrelerde SUMOlasyon tarafından hedeflendiği gösterilmiş ve DEK organlarının oluşturulması için DEK'in SUMO modifikasyonunun kısmen gerekli olduğu görülmüştür [Pierzynska-Mach et al.,2023]. Bu çalışma ile ilk defa meme kanserinin dışında çalıştığımız 10 kanser türünde DEK1 ve DEK2'nin sumolasyon yolağında yer aldığı gösterilmiştir.

Özetle, bu tez çalışması DEK1 ve DEK2 ifadesinin primer tümör ve normal dokularda ifadelerini, izoformların kanser hücre hatlarındaki ifadelerinin korelasyon oluşturup oluşturmadığını, ifadelerinin kanser türlerindeki sağkalımı nasıl etkilediğini, DEK1 ve DEK2 ifadesi ile benzer ifade gösteren genleri ve bu genleri içeren sinyal yolaklarını ortaya koymaktadır. Ek olarak zebra balığında DEK mRNA ifadesinin seviyesini ortaya koymayı amaçlamıştır. Sonuç olarak, zebra balığının farklı gelişim evrelerinde *DEK geninin* ifadesinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Ayrıca DEK1 ve DEK2 ifadesinin primer tümör ve normal dokularda ifadelerinin farklı olduğu, izoformların bazı kanser hücre hatlarında ifadelerinin korelasyon oluşturduğu, izoformların ifadelerinin kanser türlerindeki sağkalıma etkileri olduğu, DEK1 ve DEK2 ifadesi ile benzer ifade gösteren genlerin kanser ilişkili genler olduğunu ve bu genlerin içerdiği sinyal yolaklarının tümör oluşum süreçlerinde yer aldığı görülmüştür. Elde ettiğimiz veriler, *DEK* geni ve izoformlarının kanser oluşum mekanizmalarına olan etkisinin anlaşılmasına ve daha sonra bu kanserlere yönelik geliştirilebilecek terapötik çalışmalara katkıda bulunacaktır.

KAYNAKLAR

Adams A. K., Hallenbeck G. E., Casper K. A., Patil Y. J., Wilson K. M., Kimple R. J., Lambert P. F., Witte D. P., Xiao W., Gillison M. L., Wikenheiser-Brokamp K. A., Wise-Draper T. M., Wells S. I., (2014), "DEK promotes HPV-positive and -negative head and neck cancer cell proliferation", Oncogene, 34(7), 868–877.

Alexiadis V, Waldmann T, Andersen J, Mann M, Knippers R, Gruss C., (2000), “The protein encoded by the proto-oncogene DEK changes the topology of chromatin and reduces the efficiency of DNA replication in a chromatin-specific manner”, Genes Dev., 1;14(11):1308-12

Bakhtiarizadeh M.R., Alamouti A.A., (2020), “RNA-Seq based genetic variant discovery provides new insights into controlling fat deposition in the tail of sheep”, Sci. Rep. 10, 13525.

Black DL., (2003), "Mechanisms of alternative pre-messenger RNA splicing" ,Annual Review of Biochemistry,72 (1): 291–336.

Bray NL, Pimentel H, Melsted P, Pachter L., (2016), "Near-optimal probabilistic RNA-seq quantification", Nat. Biotechnol., 34:525–7.

Belluti S., Rigillo G., Imbriano C., (2020), “Transcription factors in cancer: when alternative splicing determines opposite cell fates”, Cells 9, 760–787

Carro M. S., Spiga F. M., Quarto M., Ninni V. D., Volorio S., Alcalay M., Müller H., (2006), "DEK Expression is Controlled by E2F and Deregulated in Diverse Tumor Type", Cell Cycle, 5(11), 1202–1207.

Chen M., Manley J., (2009), “Mechanisms of alternative splicing regulation: insights from molecular and genomics approaches”, Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 10, 741–754.

Datta A., Adelson M. E., Mogilevkin Y., Mordechai E., Sidi A. A., Trama J. P., (2011), “Oncoprotein DEK as a tissue and urinary biomarker for bladder cancer”, BMC cancer, 11, 1-7.

de Semir D., Bezrookove V., Nosrati M., Scanlon K. R., Singer E., Judkins J., Rieken C., Wu C., Shen J., Schmudermayer C., Dar A. A., Miller J. R., Cobbs C., Yount G., Desprez P. Y., Debs R. J., Salomonis N., McAllister S., Cleaver J. E., Soroceanu L., Kashani-Sabet M.(2020)., "PHIP drives glioblastoma motility and invasion by regulating the focal adhesion complex", Proceedings of the National Academy of Sciences, 117(16), 9064–9073.

de Albuquerque Oliveira, A. C., Kappes F., Martins D. B. G., de Lima Filho J. L., (2018), "The unique DEK oncoprotein in women's health: A potential novel biomarker", Biomedicine and Pharmacotherapy, 106, 142–148.

Goel MK, Khanna P, Kishore J., (2010), "Understanding survival analysis: Kaplan-Meier estimate", Int .J. Ayurveda Res. Oct;1(4):274-8.

Guo L. and Liu D., (2022), "Identification of RFX5 as prognostic biomarker and associated with immune infiltration in stomach adenocarcinoma", European journal of medical research, 27(1), 164.

Han Y, Gao S, Muegge K, Zhang W, Zhou B., (2015), "Advanced Applications of RNA Sequencing and Challenges", Bioinform Biol Insights, Nov 15;9(Suppl 1):29-46.

Haldi M, Ton C, Seng WL, McGrath P., (2006), "Human melanoma cells transplanted into zebrafish proliferate, migrate, produce melanin, form masses and stimulate angiogenesis in zebrafish", Angiogenesis.; 9:139-151.

Hong K., Hu L., Liu X., Simon J. M., Ptacek T. S., Zheng X., Liao C., Baldwin A. S., Zhang Q., (2020), "USP37 promotes deubiquitination of HIF2α in kidney cancer", Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 117(23), 13023–13032.

Huang W. H., Yang Q., Zhang C., (2022), "eIF4A3-induced circWAC promotes breast cancer progression through mediating miR-599/E2F3 axis", The Kaohsiung journal of medical sciences, 38(4), 321–335.

Huo D., Hu, H., Rhie S. K., Gamazon E. R., Cherniack A. D., Liu J., Yoshimatsu T. F., Pitt J. J., Hoadley K. A., Troester M., Ru Y., Lichtenberg T., Sturtz L. A., Shelley C. S., Benz C. C., Mills G. B., Laird P. W., Shriver C. D., Perou C. M., Olopade O. I., (2017), "Comparison of Breast Cancer Molecular Features and Survival by African and European Ancestry in The Cancer Genome Atlas", JAMA Oncology, 3(12), 1654.

Hu P., Liang Y., Hu Q., Wang, H., Cai Z., He J., Cai J., Liu M., Qin Y., Yu X., Jiang C., Zhang B., & Wang W., (2018), “SNX6 predicts poor prognosis and contributes to the metastasis of pancreatic cancer cells via activating epithelial-mesenchymal transition”, Acta biochimica et biophysica Sinica, 50(11), 1075–1084.

Ishida K, Nakashima T, Shibata T, Hara A, Tomita H., (2020), “Role of the DEK oncogene in the development of squamous cell carcinoma”, Int. J. Clin. Oncol., 25(9):1563-1569.

Jing L, Zon LI., (2011), “Zebrafish as a model for normal and malignant hematopoiesis”, Dis. Model Mech., 4(4):433-8.

Kappes F, Burger K, Baack M, Fackelmayer FO, Gruss C., (2001), “Subcellular localization of the human proto-oncogene protein DEK”, J. Biol. Chem. Jul 13;276(28):26317-23.

Kappes F, Scholten I, Richter N, Gruss C, Waldmann T., (2004), “Functional domains of the ubiquitous chromatin protein DEK”, Mol. Cell Biol., 24:6000–10.

Kavanaugh GM, Wise-Draper TM, Morreale RJ, Morrison MA, Gole B, Schwemberger S, Tichy ED, Lu L, Babcock GF, Wells JM, Drissi R, Bissler JJ, Stambrook PJ., (2011), “The human DEK oncogene regulates DNA damage response signaling and repair”, Nucleic Acids Res., 39:7465-7476.

Khan F. R., and Alhewairini, S. S., (2018), “Zebrafish (Danio rerio) as a Model Organism”, In L. Streba, D. I. Gheonea, and M. Schenker (Eds.), Current Trends in Cancer Management, IntechOpen.

Kondoh N, Wakatsuki T, Ryo A, Hada A, Aihara T, Horiuchi S, Goseki N, Matsubara O, Takenaka K, Shichita M, Tanaka K, Shuda M, Yamamoto M., (1999),

"Identification and characterization of genes associated with human hepatocellular carcinogenesis", Cancer Res. ,Oct 1;59(19):4990-6.

Krauß L, Urban BC, Hastreiter S, Schneider C, Wenzel P, Hassan Z, Wirth M, Lankes K, Terrasi A, Klement C, Cernilogar FM, Öllinger R, de Andrade Krätzig N, Engleitner T, Schmid RM, Steiger K, Rad R, Krämer OH, Reichert M, Schotta G, Saur D, Schneider G., (2022), "HDAC2 Facilitates Pancreatic Cancer Metastasis", Cancer Res., 15;82(4):695-707.

Kroes RA, Jastrow A, McLone MG, Yamamoto H, Colley P, Kersey DS, Yong VW, Mkrdichian E, Cerullo L, Leestma J, Moskal JR., (2000), "The identification of novel therapeutic targets for the treatment of malignant brain tumors", Cancer Lett., 11;156(2):191-8.

Kumar A., Kumar Dorairaj S., Prabhakaran V. C., Prakash D. R., Chakraborty, S., (2007), "Identification of genes associated with tumorigenesis of meibomian cell carcinoma by microarray analysis", Genomics, 90(5), 559–566.

Lin L., Piao J., Gao W., Piao Y., Jin, G., Ma, Y., Li, J., Lin Z., (2013), "DEK over expression as an independent biomarker for poor prognosis in colorectal cancer", BMC cancer, 13, 366.

Lin J. C., Tsao M. F., Lin Y. J., (2016), "Differential impacts of alternative splicing networks on apoptosis", Int. J. Mol. Sci. 17, 2097–2115.

Liu K, Feng T, Liu J, Zhong M and Zhang S., (2012), "Silencing of the DEK gene induces apoptosis and senescence in CaSki cervical carcinoma cells via the up-regulation of NF-κB p65", Biosci. Rep. 32:323–332.

Loven J., Orlando D.A., Sigova A.A., Lin C.Y., Rahl P.B., Burge C.B., Levens D.L., Lee T.I., Young R.A., (2012), "Revisiting global gene expression analysis", Cell, 151, 476–482.

Meng Y., Ying Y., Zhang M., Zhang S., Yao Y., Li D., (2022), "A comprehensive bioinformatic analysis of *RanBP9* expression and its relation to prognosis in human breast cancer", Epigenomics, 14(1), 27–42.

Mortazavi A, Williams BA, McCue K, Schaeffer L, Wold B., (2008), “Mapping and quantifying mammalian transcriptomes by RNA-Seq”, Nat. Methods., 5:621–8.

Mor-Vaknin N, Punturieri A, Sitwala K, Faulkner N, Legendre M, Khodadoust MS, Kappes F, Ruth JH, Koch A, Glass D, Petruzzelli L, Adams BS, Markovitz DM., (2006), “The DEK nuclear autoantigen is a secreted chemotactic factor”, Mol. Cell Biol., 26(24):9484-96.

Nakashima T, Tomita H, Hirata A, Ishida K, Hisamatsu K, Hatano Y, Kanayama T, Niwa A, Noguchi K, Kato K, Miyazaki T, Tanaka T, Shibata T, Hara A., (2017), “Promotion of cell proliferation by the proto-oncogene DEK enhances oral squamous cell carcinogenesis through field cancerization”, Cancer Med., (10):2424-2439.

Ozsolak F., Milos P., (2011), “RNA sequencing: advances, challenges and opportunities”, Nat. Rev. Genet., 12, 87–98.

Özçelik E., Kalaycı A., Çelik B., Avcı A., Akyol H., Kılıç R. B., Güzel T., Çetin M., Öztürk M. T., Çalışkaner Z. O., Tombaz M., Yoleri D., Konu Z., Kandilci A., (2022), “Doxorubicin induces prolonged DNA damage signal in cells overexpressing DEK isoform-2”, PLOS ONE, 17(10), e0275476.

Pan Q, Shai O, Lee LJ, Frey BJ, Blencowe BJ, (2008), "Deep surveying of alternative splicing complexity in the human transcriptome by high-throughput sequencing", Nature Genetics, 40 (12): 1413–5.

Patro R, Duggal G, Love MI, Irizarry RA, Kingsford C., (2017), “Salmon provides fast and bias-aware quantification of transcript expression”, Nat. Methods. 2; 14:417–9.

Piao J., Shang Y., Liu S., Piao Y., Cui X., Li Y., Lin Z., (2014), “High expression of DEK predicts poor prognosis of gastric adenocarcinoma”, Diagnostic pathology, 9, 1-7.

Pierzynska-Mach A., Czada C., Vogel C., Gwosch E., Osswald X., Bartoschek D., Diaspro A., Kappes F., Ferrando-Mayromatin E., (2023), “DEK oncoprotein participates in heterochromatin replication via SUMO-dependent nuclear bodies”, BioRxiv.

Sandén C.; Ageberg M., Petersson, J., Lennartsson, A., Gullberg, U., (2013), “Forced expression of the DEK-NUP214 fusion protein promotes proliferation dependent on upregulation of mTOR”, BMC Cancer, 13, 440.

Sandén C., Gullberg U. (2015), “The DEK oncoprotein and its emerging roles in gene regulation”, Leukemia 29, 1632–1636.

Santoriello C, Zon LI., (2012), “Hooked! Modeling human disease in zebrafish”, The Journal of Clinical Investigation, 122(7):2337-2343

Shin YS, Cha HY, Lee BS, Kang SU, Hwang HS, Kwon HC, Kim CH, Choi EC., (2016), "Anti-cancer Effect of Luminacin, a Marine Microbial Extract, in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Progression via Autophagic Cell Death", Cancer Res. Treat, 48(2):738-52.

Strähle U, Scholz S, Geisler R, Greiner P, Hollert H, Rastegar S, Schumacher A, Selderslaghs I, Weiss C, Witters H, Braunbeck T., (2012), “Zebrafish embryos as an alternative to animal experiments--a commentary on the definition of the onset of protected life stages in animal welfare regulations”, Reprod. Toxicol., 33(2):128-32.

Trapnell C, Williams BA, Pertea G, Mortazavi A, Kwan G, van Baren MJ, Salzberg SL, Wold BJ, Pachter L., (2010), “Transcript assembly and quantification by RNA-Seq reveals unannotated transcripts and isoform switching during cell differentiation”, Nat. Biotechnol., 28:511–5.

Riveiro-Falkenbach E, Soengas MS., (2010), “Control of tumorigenesis and chemoresistance by the DEK oncogene”, Clin. Cancer Res., 16(11):2932-8.

Tang Z., Kang B., Li C., Chen T., Zhang Z., (2019), “GEPIA2: an enhanced web server for large-scale expression profiling and interactive analysis. Nucleic acids research, 47(W1), W556–W560.

Verhaak RG, Hoadley KA, Purdom E, Wang V, Qi Y, Wilkerson MD, Miller CR, Ding L, Golub T, Mesirov JP, Alexe G, Lawrence M, O'Kelly M, Tamayo P, Weir BA, Gabriel S, Winckler W, Gupta S, Jakkula L, Feiler HS, Hodgson JG, James CD, Sarkaria JN, Brennan C, Kahn A, Spellman PT, Wilson RK, Speed TP, Gray JW, Meyerson M, Getz G, Perou CM, Hayes DN., (2010), “Integrated genomic analysis identifies clinically relevant subtypes of glioblastoma characterized by abnormalities in PDGFRA, IDH1, EGFR, and NF1”, Cancer Cell., 17(1):98-110.

von Lindern M, Breems D, van Baal S, Adriaansen H, Grosveld G., (1992), "Characterization of the translocation breakpoint sequences of two DEK-CAN fusion genes present in t(6;9) acute myeloid leukemia and a SET-CAN fusion gene found in a case of acute undifferentiated leukemia", Genes Chromosomes Cancer., 5(3):227-34.

von Lindern M, Fornerod M, van Baal S, Jaegle M, de Wit T, Buijs A, Grosveld G., (1992), "The translocation (6;9), associated with a specific subtype of acute myeloid leukemia, results in the fusion of two genes, dek and can, and the expression of a chimeric, leukemia-specific dek-can mRNA", Mol. Cell. Biol. ,12(4):1687-97.

Wagner KD, El Maï M, Ladomery M, Belali T, Leccia N, Michiels JF, Wagner N., (2019), “Altered VEGF Splicing Isoform Balance in Tumor Endothelium Involves Activation of Splicing Factors Srpk1 and Srsf1 by the Wilms' Tumor Suppressor Wt1”, Cells. 11;8(1):41.

Wang D. M., Liu L., Fan L., Zou Z. J., Zhang L. N., Yang S., Li J. Y.,Xu, W., (2012), “Expression level of DEK in chronic lymphocytic leukemia is regulated by fludarabine and Nutlin-3 depending on p53 status. Cancer biology and therapy”, 13(14), 1522–1528.

Wang L., Hu T., Shen Z., Zheng Y., Geng Q., Li, L., Sha B., Li M., Sun Y., Guo Y., Xue W., Xuan D., Chen P., & Zhao J., (2022), “Inhibition of USP1 activates ER stress through Ubi-protein aggregation to induce autophagy and apoptosis in HCC”, Cell Death and Disease, 13(11).

Wang X., Lin L., Ren X., Lin Z., Li Z., Li C., Jin T., (2014), “High expression of oncoprotein DEK predicts poor prognosis of small cell lung cancer”, International journal of clinical and experimental pathology, 7(8), 5016–5023.

Wang Y., Liu J., Huang B. O., Xu Y. M., Li J., Huang L. F., Lin J., Zhang J., Min Q. H., Yang W. M., Wang X. Z., (2015), “Mechanism of alternative splicing and its regulation”, Biomedical reports, 3(2), 152–158.

Wang Z., Gerstein M., Snyder M., (2009), “RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics”, Nat. Rev. Genet. 10, 57–63.

Web 1,(2022), https://www.cancer.gov/aboutnci/organization/ccg/research/structural-genomics/tcga,(Erişim Tarihi: 15/10/2022).

Web 2, (2022), https://www.cell.com/pbassets/consortium/pancanceratlas/pancani3/index.html),

(Erişim Tarihi: 18/10/2022).

Web 3, (2022), https://sites.broadinstitute.org/ccle/,(Erişim Tarihi: 27/10/2022).

Web 4, (2022), https://xena.ucsc.edu/,(Erişim Tarihi: 30/10/2022).

Wise-Draper TM, Mintz-Cole RA, Morris TA, Simpson DS, Wikenheiser-Brokamp KA, Currier MA, Cripe TP, Grosveld GC, Wells SI., (2009), “Overexpression of the cellular DEK protein promotes epithelial transformation in vitro and in vivo”, Cancer Res. ;69(5):1792-9.

Yang Y, Gao M, Lin Z, Chen L, Jin Y, Zhu G, Wang Y and Jin T, (2017), “DEK promoted EMT and angiogenesis through regulating PI3K/AKT/mTOR pathway in triple-negative breast cancer, Oncotarget. 8:98708–98722.

Yu L, Huang X, Zhang W, Zhao H, Wu G, Lv F, Shi L, Teng Y., (2016), “Critical role of DEK and its regulation in tumorigenesis and metastasis of hepatocellular carcinoma”, Oncotarget., 7:26844-26855

Zhao S, Huang J, Ye J., (2015), “A fresh look at zebrafish from the perspective of cancer research”, Journal of Experimental and Clinical Cancer Research, 34:80.

Zhao Y., Yu Y., Li H., Zhang Z., Guo S., Zhu S., Guo Q., Li P., Min L., Zhang S., (2019), “FAM175B promotes apoptosis by inhibiting ATF4 ubiquitination in esophageal squamous cell carcinoma”, Molecular Oncology, 13(5), 1150–1165.

Zhou L, Panté N., (2010), “The nucleoporin Nup153 maintains nuclear envelope architecture and is required for cell migration in tumor cells”, FEBS Lett., 16;584(14):3013-20.

ÖZGEÇMİŞ

Dilan Yoleri, 2015 yılında Gebze Teknik Üniversitesi Temel Bilimler Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'nde lisans eğitimine başladı. 2020 yılında lisans eğitimini tamamladıktan sonra 2020-2021 bahar döneminde Gebze Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. Yüksek lisans eğitimi sırasında TÜBİTAK 1001 projesinde proje asistanı olarak çalıştı.

EKLER

Ek A: Tez Çalışması Kapsamında Yapılan Yayın

Özçelik E., Kalaycı A., Çelik B., Avcı A., Akyol H., Kılıç R. B., Güzel T., Çetin M., Öztürk M. T., Çalışkaner Z. O., Tombaz M., Yoleri D., Konu Z., Kandilci A., (2022), "Doxorubicin induces prolonged DNA damage signal in cells overexpressing DEK isoform-2", PLOS ONE, 17(10), e0275476.