

BİYOTEKNOLOJİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

2025

1. I***** M***** Osteosarkoma Yönelik Yeni Bir Polimerik İlaç Taşıyıcı Sistemin Sentezi ve Sitotoksik Etkinliğinin Değerlendirilmesi
2. E*** C** G***** Sıçanlarda Paratiroit ve Tiroit Dokusuna Özgü Referans Gen Belirlenmesi

OSTEOSARKOMA YÖNELİK YENİ BİR POLİMERİK İLAÇ TAŞIYICI SİSTEMİN SENTEZİ VE SİTOTOKSİK ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ÖZET

Osteosarkom, gençlerde görülmesi, sağkalım süresinin düşük olması ve kullanılan antikanser ilaçların yan etki profilinin yüksek olması sebebiyle çoğunlukla tedavisi zor bir hastalıktır. Mevcut kemoterapötiklerin kullanımındaki sınırlamaları aşmak amacıyla bu proje bilinen antineoplastik bir ajan olan cisplatin içeren bir ilaç taşıyıcı sistem (İTS) formülasyonunun geliştirilmesi üzerine yapılacaktır. İTS'ler son yıllarda yoğun bir şekilde çalışılan, multidisipliner bir alan olarak, akıllı ilaç tasarımlarında önemli rol oynayan teknolojilerdir. Özellikle kanser çeşitlerine yönelik konvansiyonel ilaçların tedavi başarısını arttırmak için lipozom, misel, polimer, jel, altın nanoparçacık, niozom, katı lipid nanopartikül, dendrimer, nanokapsül gibi çeşitli sistemler geliştirilebilmektedir.

Bu çalışmada tasarlanan ilaç taşıyıcı sistem için kopolimerik misel yapısı oluşturacaktır. Polimerde 1,1-di-tert-butil-3-(2-(metakriloyloksi)etil)-butan-1,1,3-trikarboksilat (MAETC) monomeri aracılığıyla hem ilacın biyoyararlanımının arttırılması hem de cisplatin ilaç molekülünü taşıması, ikinci monomer olan 3-(trimetilsillil) prop-2-in-1-il polimetakrilat (TMSpMA) monomeri ucuna hedeflendirici peptid molekülü eklenmesi, 2-hidroksi etil metakrilat (HEMA) ile hidrofilik özellik kazandırılması ve neticede kendiliğinden misel oluşturacak bir sistemin geliştirilmesi planlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: cisplatin, ilaç taşıyıcı sistem, kemik hedefli peptid, misel, osteosarkom

SIÇANLARDA PARATIROİT VE TİROİT DOKUSUNA ÖZGÜ REFERANS GEN BELİRLENMESİ

ÖZET

Gen ekspresyon analizleri, moleküler biyoloji ve biyoteknoloji alanlarında genlerin fonksiyonel rollerini transkripsiyonel düzeyde anlamak için en temel ve güçlü yöntemlerden biridir. Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu, bu analizler için yüksek hassasiyeti, hızı ve güvenilirliği sayesinde en sık tercih edilen teknikler arasında yer almaktadır. Ancak, GZ-PZR verilerinin doğruluğu, gen ekspresyon düzeylerini standardize etmek amacıyla kullanılan referans genlerin doğru seçimine ve stabilitesine doğrudan bağlıdır. İdeal bir referans genin, farklı doku tipleri, fizyolojik koşullar ve deneysel gruplar arasında sabit bir ekspresyon seviyesini koruması gerekmektedir. Referans gen seçimindeki hatalar, gen ekspresyon verilerindeki gerçek değişimlerin yanlış yorumlanmasına ve hatalı biyolojik sonuçlara yol açabilir.

Bu çalışmada, tiroit ve paratiroit dokularına özgü genler olan tiroglobulin (TG) ve parathormon (PTH) ekspresyonunun güvenilir bir şekilde normalizasyonu için en uygun referans genlerini belirlemeyi amaçlamaktadır. Çalışma kapsamında Sprague-Dawley ve Wistar olmak üzere iki farklı sıçan ırkı ve her iki ırka ait erkek ve dişi bireyler kullanılmıştır. Aday referans gen olarak RPLP13A, PGK1, SDHA, TBP, HPRT1, GAPDH, YWHAZ, VCL, ve ACTB genleri seçilmiş ve ekspresyon stabiliteyi dört farklı biyoinformatik algoritma (BestKeeper, NormFinder, GeNorm ve Delta Ct metodu) kullanılarak kapsamlı bir şekilde analiz edilmiştir. Bu çok yönlü yaklaşım, her bir genin farklı deneysel koşullardaki performansını detaylı bir şekilde değerlendirme imkanı sunmuştur.

Elde edilen sonuçlar, referans gen stabilitesinin evrensel bir özellik olmadığını, aksine incelenen biyolojik değişkenlere (ırk ve cinsiyet) bağlı olarak önemli ölçüde farklılıklar gösterdiğini net bir şekilde ortaya koymuştur. RefFinder arayüzü ile yapılan bütüncül sıralama analizleri, bu farklılıkları somutlaştırmaktadır. Seçilen dokuz aday gen içerisinde; PGK1, HPRT1, YWHAZ, VCL genlerine ait Ct değerleri 38'den büyük olması sebebiyle tüm stabilite analizlerinde dışlanmıştı. Erkek sıçanlarda ACTB (geometrik ortalama: 1,68) ve SDHA (geometrik ortalama: 1,86) genleri en yüksek stabiliteye sahip referans genler olarak belirlenirken, dişi sıçanlarda SDHA (geometrik ortalama: 1,19) ve TBP (geometrik ortalama: 2,45) genlerinin daha üstün bir stabilite profili sergilediği görülmüştür. Bu bulgu, cinsiyetin gen ekspresyon düzeyleri üzerindeki etkisinin altını çizmekte ve gen ekspresyon normalizasyonunda bu faktörün göz ardı edilmemesi gerektiğini vurgulamaktadır.

İrk bazlı değerlendirmelerde de benzer değişkenlikler saptanmıştır. Sprague-Dawley sıçanlarında TBP ve ACTB genleri stabilite açısından öne çıkarken, Wistar sıçanlarında SDHA ve TBP genleri daha yüksek stabilite değerleri elde etmiştir. Bu durum, referans gen seçiminde türler arası validasyonun gerekliliğini göstermektedir. Ayrıca, geleneksel olarak "housekeeping" gen olarak kabul edilen GAPDH'nin, incelenen tüm deneysel koşullar ve analiz yöntemlerinde en düşük stabiliteyi

göstermesi dikkat çekicidir. Bu bulgu, GAPDH gibi yaygın genlerin otomatik olarak referans gen olarak kullanılmasının sonuçları yanlış veya eksik yorumlamaya neden olabileceğini kanıtlamaktadır.

Bu çalışmanın sonuçları, GZ-PZR tabanlı gen ekspresyon analizlerinde güvenilirliğin artırılması için referans gen validasyonunun mutlak bir gereklilik olduğunu göstermektedir. Bulgularımız doğrultusunda, Sprague-Dawley ve Wistar sıçanlarının tiroit ve paratiroid dokularındaki gen ekspresyon çalışmalarında, normalizasyon için SDHA ve TBP genlerinin birinci tercih olarak kullanılması önerilmektedir. Ancak, en güvenilir sonuçlar için, çalışmanın spesifik biyolojik koşullarına (örneğin, erkek sıçanlar için ACTB ve SDHA, dişi sıçanlar için SDHA ve TBP) uygun referans gen kombinasyonlarının seçilmesi kritik önem taşımaktadır. Ayrıca, gen ekspresyon verilerinin doğruluğunu ve tekrarlanabilirliğini en üst düzeye çıkarmak için tek bir analitik yöntemle bağlı kalmak yerine, BestKeeper, NormFinder ve GeNorm gibi çoklu algoritmaların birlikte kullanılması tavsiye edilmektedir.

Bu çalışmada, tiroit ve paratiroid araştırmaları için daha sağlam bir moleküler profillemeye çerçevesi sunmakta ve gelecekte bu dokularda gen ekspresyonu analizleri yapacak araştırmacılar için değerli bir referans oluşturmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Referans gen, normalizasyon, GZ-PZR, delta Ct, delta delta Ct, tiroit, paratiroid