

**PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ:** MEHMET BURAK DURMAZ

**PROJE NO:** 120Z468

**PROJE TİPİ:** 1001 - Araştırma

**PROJE ADI:** Meme Kanseri Kök Hücrelerinden Salınan Hücresiz Serbest DNA'nın (cfDNA) In Vitro Koşullarda Alıcı Hücrelerdeki Etkisinin Araştırılması

## **PROJE ÖZETİ**

**i. Amacı:** Canlı tümör hücrelerinden aktif şekilde ortama salınan serbest dolaşan hücresiz DNA'nın tümör gelişimi ve progresyonu, uzak ve yakın metastaz süreçlerinde etkili genlerin ekspresyonu ve hücre davranışları üzerine olası rolünün araştırılmasıdır.

**ii. Özgün Değeri:** Hücre dışında bulunan serbest DNA (cfDNA) malign ve malign olmayan çeşitli hastalıklarda apoptotik/nekrotik hücrelerden ve canlı hücrelerden aktif şekilde salınarak dolaşımda bulunduğu bilinmektedir. cfDNA'nın endositoz/fagositoz ile ilaç direncinin aktardığı, metastatik genlerin ekspresyonunun arttığına gösterilmesi ile horizontal gen transferini açıklayan "gen metastazı" hipotezi geliştirildi. cfDNA'nın kanser metastazı ile ilişkisini açıklamaya yönelik canlı kanser hücrelerinden aktif şekilde ortama salınan cfDNA ile tümör gelişimi, progresyonu, metastazı arasındaki ilişkiyi kapsamlı şekilde inceleyen sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Tümörden köken alan cfDNA, metastazlar oluşturmak için, yakındaki hücreleri veya organları transfekte eden bir "enfeksiyon parçacığı" gibi davranabilir. Böylece, normal hücrelere entegre olan cfDNA'lar, sağlıklı hücrelerdeki bazı genlerin ekspresyon düzeylerini değiştirebilir, invazyon ve metastazı teşvik edebilir. Yapılan çalışmalarda kanser gelişiminde, invazyon, metastazın ve progresyonunda etkili olduğu bilinen cfDNA'nın bu etkisini hücrelerarası iletişim yolu ile mi yoksa kendisi dolaşıma katılarak mı gerçekleştirdiği konusunda farklı hücre kültürlerini içeren in-vitro koşullarda kapsamlı bir çalışma bulunmamaktadır.

Canlı insan kanser hücrelerinden aktif şekilde salınan cfDNA'nın tümör gelişimine ve progresyonu sürecindeki olası rolünün metastazda hedef olan ve tümör mikroçevresini oluşturan çeşitli alıcı hücreler üzerindeki hücrelerarası davranışlarına ve gen ekspresyon düzeyindeki değişikliklerin incelenmesi yolu ile araştırılması çalışmamızın özgün değerini oluşturmaktadır.

**iii. Yöntem:** Primer meme kanseri BT-20 hücre kültürü ortamından flow sitometri yöntemi ile CD44+ / CD24+ / low kanser kök hücreleri ayrılacak ve bu hücrelerin içinde bulunduğu kültür ortamından cfDNA izole edilecektir (izolasyon, ön çalışma olarak gerçekleştirilmiştir). İzole edilen bu cfDNA işaretlendikten sonra her bir hücre hattı için 3 ayrı kültür şeklinde oluşturulan insan mezenkimal kök hücreleri, akciğer bronş epitel hücreleri ve normal MCF-10A meme epitel hücre kültürleri ortamına eklenip hücre içine geçiş gösterildikten sonra tüm alıcı hücrelerde kültür öncesi ve sonrası hücre canlılık, proliferasyon ve invazyon analizleri değerlendirildikten sonra total mRNA ekspresyonu analizleri yapılacaktır. Total gen ekspresyonları sonuçları ile yolak analizleri yapılarak cfDNA'nın tümör gelişimi ve progresyonu, metastazı ile ilişkili genlerdeki ekspresyon değişiklikleri incelenecektir. Anlamlı çıkan genlerin protein düzeyleri ELISA yöntemi ile ölçülecektir.

**iv. Yönetim:** Proje, disiplinlerarası bir proje özelliğinde olup, tıbbi genetik, tıbbi biyoloji, histoloji ve embriyoloji disiplinlerinden oluşmaktadır. Hücre kültür çalışmalarının optimizasyonu, hücre canlılık, proliferasyon testleri ve invazyon analizleri Tıbbi Biyoloji araştırmacıları tarafından gerçekleştirilecektir. cfDNA izolasyonu, işaretlenmesi Prof. Dr. Gülperi Öktem danışmanlığında doktora sonrası bursiyer tarafından, total gen ekspresyon değişikliklerinin analizi Tıbbi Genetik araştırmacıları tarafından gerçekleştirilecektir. Tüm aşamalarda doktora öğrencisi ve doktora sonrası bursiyer görev alacaktır. Tüm analizlerin biyoistatistiksel analizleri Doç. Dr. Çığır Biray Avcı ve doktora sonrası araştırmacı tarafından gerçekleştirilecektir.

**v. Yaygın Etki:** Çalışmamızdan elde edilen veriler kanser hücrelerinin dokulara göre birbirinden farklı olan progresyon özelliklerinin, metastaz seçimlerinin ve bu dokulardaki gelişimlerinde cfDNA'nın rolünün ortaya konulmasında ve aydınlatılmamış noktaların açıklanmasında yol gösterici olacaktır.