

Proje Yöneticisi: Dr.Öğr.Üyesi SEVCAN ATAY

Proje ID: 22230

Proje Kodu: TGA-2020-22230

Proje Başlığı: Glioblastomlarda diagnostik ve prognostik biyobelirteç olarak kullanılan izositrat dehidrogenaz IDH1 mutasyonlarının tayini için dCas9 ile modifiye edilmiş impedimetrik biyosensör geliştirilmesi

Proje Türü: Genel Araştırma Projesi

Proje Özeti: Glioblastom (GBM, WHO evre IV astrositom) en sık karşılaşılan ve en agresif malign beyin tümörü çeşididir. Glioblastomlar, primer GBM ve sekonder GBM olarak histolojik olarak birbirinden ayırt edilmesi pratikte mümkün olmayan iki alt türe ayrılmaktadır. Farklı türlere sahip hastalarda prognoz ile temozolomid ve radyoterapiye verilen yanıt oldukça farklılık göstermektedir. Primer ve sekonder GBM'yi birbirinden ayıran en yaygın genetik anomali izositrat dehidrogenaz (IDH1) geninde yer alan somatik tek nükleotid mutasyonlarıdır. Dünya sağlık örgütü hastalığın alt türlerini yeniden isimlendirerek IDH mutant (sekonder GBM) ve IDH yabani tip (primer GBM) olarak belirlemiştir. IDH mutasyon varlığı glioblastomlarda hem alt türlerin doğru tanısında hem de prognoz tayininde önemli bir biyobelirteçtir. Fakat günümüzde sekanslama yöntemi ile belirlenen bu mutasyonun tayini yüksek maliyet ve zaman gerektirdiği için oldukça kısıtlıdır. Bu çalışmada glioblastomlarda en yaygın gözlenen izositrat dehidrogenaz enzimini kodlayan IDH1 geninin R132 kodonunda yer alan mutasyonların belirlenmesi için bir biyosensör sistemi geliştirilecektir. Bu biyosensör sistemi endonükleaz aktivitesi olmayan deaktive Cas9 (dCas) proteinleri kullanılarak afinite temelli bir DNA biyosensörü olarak geliştirilecektir. dCas9 proteinleri hedef izositrat dehidrogenaz (IDH) enzim mutasyonlarına spesifik sentetik kılavuz (sg) RNA'lar ile modifiye edildikten sonra IDH mutasyonlarını tanıyabilecek hale getirilecektir. Böylelikle biyosensör geliştirilmesi tamamlanacaktır. Bu işlemde sonra mutasyonlar için biyosensör seçicilik, tekrarlanabilirlik, tekrar üretilebilirlik, lineer ölçüm aralığının belirlenmesi, LOD ve LOQ performans testleri yapay örneklerde gerçekleştirilecektir. Bu proje ile IDH nokta mutasyonunu tayin eden dCas9 tanıma ajanı kullanılan bir biyosensör geliştirilecektir. Böylelikle, spesifitesi yüksek, daha ucuz ve pratik bir tayin sisteminin geliştirilmesi bu biyobelirtecin klinikte daha efektif, düşük maliyetle ve yaygın kullanımına imkan verebilecektir.