

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOİSTATİSTİK ANABİLİM DALI**

**FARKLI KANSER TÜRLERİNE AİT RNA-SEQ VERİLERİNDE
İNTRON TUTULUMUNUN TESPİTİ VE
SINIFLANDIRILMASINDA BİYOİNFORMATİK
YAKLAŞIMLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Hazırlayan
Esmâ Gamze AKSEL**

**Danışmanlar
Prof. Dr. Gökmen ZARARSIZ (1. Danışman)
Doç. Dr. Vahap ELDEM (2. Danışman)**

Yüksek Lisans Tezi

**Ağustos 2024
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOİSTATİSTİK ANABİLİM DALI**

**FARKLI KANSER TÜRLERİNE AİT RNA-SEQ VERİLERİNDE
İNTRON TUTULUMUNUN TESPİTİ VE
SINIFLANDIRILMASINDA BİYOİNFORMATİK
YAKLAŞIMLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

**Hazırlayan
Esmâ Gamze AKSEL**

**Danışmanlar
Prof. Dr. Gökmen ZARARSIZ (1. Danışman)
Doç. Dr. Vahap ELDEM (2. Danışman)**

**Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından TYL-2022-12231 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Ağustos 2024
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, tüm bilgilerin akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda akademik ve etik kuralların gerektirdiği gibi tüm material ve sonuçları tam olarak aktardığımı, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel kurallara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve kaynaklar listesinde gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı: Esmâ Gamze AKSEL

İmza:



YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“Farklı Kanser Türlerine ait RNA-Seq Verilerinde İntron Tutulumunun Tespiti ve Sınıflandırılmasında Biyoinformatik Yaklaşımların Değerlendirilmesi” adlı Yüksek Lisans Tezi Erciyes Üniversitesi Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Esmâ Gamze AKSEL

1. Danışman

Prof. Dr. Gökmen ZARARSIZ

2. Danışman

Doç. Dr. Vahap ELDEM

Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Ahmet ÖZTÜRK

KABUL ve ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Gökmen ZARARSIZ ve Doç. Dr. Vahap ELDEM'in danışmanlığında ESMA GAMZE AKSEL tarafından hazırlanan " Farklı Kanser Türlerine ait RNA-Seq Verilerinde İntron Tutulumunun Tespiti ve Sınıflandırılmasında Biyoinformatik Yaklaşımların Değerlendirilmesi" adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıp Biyoistatistik Anabilim Dalı'nda **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

...../...../2024

İmza

JURİ

1.Danışman: Prof. Dr. Gökmen ZARARSIZ

Üye: Doç. Dr. Güzde ERTÜRK ZARARSIZ

Üye: Doç. Dr. Aysun ADAN

ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../2024

Prof. Dr. Bilal AKYÜZ

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın planlanması ve yürütülmesinde görev alan çok değerli danışmanlarım Prof. Dr. Gökmen ZARARSIZ'a ve Doç. Dr. Vahap ELDEM'e teşekkür ederim. Araştırma sürecinde yardımlarını eksik etmeyen Doktora Öğrencisi Selim Can KURALAY'a, Yüksek Lisans Öğrencisi Mert KUZUCULAR'a teşekkür ederim. Tez projemin yürütülmesinde destek veren Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

Ayrıca tüm bu süreçlerde her türlü maddi manevi desteklerinden ötürü eşim, kızım ve büyük aileme teşekkürlerimi sunuyorum.

Esma Gamze AKSEL

FARKLI KANSER TÜRLERİNE AİT RNA-SEQ VERİLERİNDE İNTRON TUTULUMUNUN TESPİTİ VE SINIFLANDIRILMASINDA BİYOİNFORMATİK YAKLAŞIMLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Esmâ Gamze AKSEL

T.C. Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Biyoistatistik Anabilim Dalı

Doktora Tezi, Ağustos 2024

Danışmanlar: Prof. Dr. Gökmen ZARARSIZ (1. Danışman)

Doç. Dr. Vahap ELDEM (2. Danışman)

ÖZET

İntron tutulumunun çeşitli kanser oluşum yolları ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Güvenilir bir şekilde ölçülmesi zor olduğu için genellikle ihmal edilen bir alternatif kırılma sınıfını oluşturur. Bu çalışmada NCBI-SRA veritabanından Meme-Üçlü Negatif Meme Kanseri alt tipi (n:67), Servikal (n:12), Kolorektal (n:144), Mide (n:160), Akciğer (n:62), Prostat (n:60) kanser türlerine ait kontrol ve tümör RNA-seq verileri indirilerek intron tutulumunu belirlemek için bildirilen IRFinder, IRFinder-S, iREAD, Whippet algoritma sonuçlarının değerlendirilmesi ve iş akış yönergesinin oluşturulması amaçlanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre IRFinder, IRFinder-S, iREAD algoritmalarının belirlediği gen bölgelerinin kesişim noktasında kontrol grubuna göre tümör grubunda yukarı yönlü intron tutulumu meme (47 gen bölgesi), kolorektal (3 gen bölgesi), akciğer (2 gen bölgesi), mide (17 gen bölgesi) kanserinde belirlenmiştir. Aşağı yönlü intron tutulumu ise meme (3 gen bölgesi), akciğer (5 gen bölgesi), prostat (3 gen bölgesi) kanseri verilerinde belirlenmiştir. Servikal kanser verilerinde intron tutulumu kesişimleri belirlenmemiştir. Kesişim bölgelerine ait Cohen Kappa sonuçlarına göre en uyumlu algoritmaların IRFinder ve IRFinder-S (%99) olduğu belirlenmiştir. iREAD'in ilk iki algoritma ile ortak tutulan intron bölgelerini kromozom sayısı başlangıç ve bitiş bölgeleri olarak belirleyebildiği Whippet algoritmasının ise belirleyemediği gözlenmiştir. Üç algoritmada (IRFinder, IRFinder-S, iREAD) bulunan genlerin yolak analizi sonuçlarına göre özellikle meme kanserinde ENSG00000074181 (NOTCH3) ve kolorektal kanserde ENSG00000080824 (HSPA90AA1), akciğer kanserinde ENSG00000183020 (AP2A2) ilgili dokulara özgü kanser yolları ile ilişkili olabileceği aynı zamanda prostat kanseri aşağı yönlü intron tutulumu genlerinden ENSG00000160789 (LMNA) geninin de bu yollarla intron tutulumu bakımından ilişkili olabileceği dolayısıyla incelenmesi önerilmiştir. Literatür taramaları ve araştırma sonucu elde edilen verilere göre IRFinder, IRFinder-S ve iREAD algoritmalarında ortak bulunan tutulmuş intron bölgelerinin dikkate alınarak, yolak analizlerinin yapılması, validasyon çalışmalarının yapılması gerektiği, hastalık patogenezinin belirlenmesine yönelik yeni ip uçlarının keşfedilebileceği ön görülmüştür.

Anahtar kelimeler: IRFinder-S; İntron Tutulumu; Iread; Kanser; Whippet

EVALUATION OF BIOINFORMATICS APPROACHES FOR DETECTION AND CLASSIFICATION OF INTRON RETENTION IN RNA-SEQ DATA OF DIFFERENT CANCER TYPES

Esma Gamze AKSEL

T.R. Erciyes University, Institute of Health Sciences

Department of Biostatistics

Doctoral Thesis, August 2024

Advisors: Prof. Dr. Gökmen ZARARSIZ (1st Consultant)

Assoc. Dr. Vahap ELDEM (2nd Consultant)

ABSTRACT

Intron retention has been reported to be associated with various carcinogenesis pathways. It constitutes a class of alternative splicing that is often neglected because it is difficult to measure reliably. In the present study, we analysed the NCBI-SRA database (publicly available, paired-end data) of Breast-Triple Negative Breast Cancer subtype (n:67), Cervical (n:12), Colorectal (n:144), Gastric (n:160), Lung (n:62), Prostate (n:60) cancer types control and tumor RNA-seq data were downloaded to evaluate the reported IRFinder, IRFinder-S, iREAD, Whippet algorithm results to determine intron involvement and to create workflow guidelines. According to the obtained results, upstream intron retention in the tumor group at the intersection of gene regions determined by IRFinder, IRFinder-S, and iREAD algorithms was determined in breast (47 gene regions), colorectal (3 gene regions), lung (2 gene regions), gastric (17 gene regions) cancer compared to the control group. In downstream intron retention was determined in breast (3 gene regions), lung (5 gene regions), and prostate (3 gene regions) cancer data. Intron intersections could not be determined in cervical cancer data. According to the Cohen Kappa results of the intersection regions, the most compatible algorithms were IRFinder and IRFinder-S (99%). It was observed that IRFinder was able to identify the intron regions shared by the first two algorithms as chromosome number start-end regions. In contrast, the Whippet algorithm was not able to identify them. According to the pathway analysis results of the genes found in the three algorithms (IRFinder, IRFinder-S, iREAD), especially ENSG00000074181 (NOTCH3) in breast cancer and ENSG00000080824 (HSPA90AA1) in colorectal cancer, ENSG00000183020 (AP2A2) in lung cancer may be associated with related tissue-specific cancer pathways, and ENSG00000160789 (LMNA), one of the downstream intron retention genes in prostate cancer, may also be associated with intron retention in these pathways, and therefore, it was suggested to be examined. According to the literature reviews and the data obtained as a result of the research, it was suggested that pathway analyses should be performed, validation studies should be performed, and new clues for determining the pathogenesis of the disease could be discovered by taking into account the common intron regions found in IRFinder, IRFinder-S, and iREAD algorithms.

Keywords: Cancer; IRFinder-S; Intron Retention; Iread; Whippet

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK.....	
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....	ii
KABUL ve ONAY SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR ve SİMGELER	xii
TABLolar LİSTESİ.....	xv
ŞEKİLLER LİSTESİ	xvi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
3. GEREÇ VE YÖNTEM	22
3.1. Biyoinformatik analizler için alt yapı.....	22
3.2. verilerin belirlenmesi ve harici disklere indirilmesi.....	22
3.3.Ham ve işlenmiş verilerin kalite kontrolü, istatistiki analizi ve ön filtreden geçirilmesi	24
3.4. Kısa RNA-seq okumalarının insan genomuna hizalanması ve STAR indeks referansının oluşturulması	24
3.5. İntron tutulumu algoritmaları ile verilerin analizi ve iş akış şemalarının oluşturulması	24
3.6. Algoritmalarından elde edilen sonuçların eşik (cutoff) değerlerinin belirlenmesi	25
3.7. Venny, İntervene kesişim ve ShinyGo, gProfiler Yolak Analizleri	25
3.8. Cohen Kappa Analizleri	25
4.BULGULAR	26
4.1.Verilerin kalite kontrol sonuçları ve algoritmalara ait özellikler	26
4.2.Venn Diyagramı ve İntervene Sonuçları	30

4.3.Meme kanseri örneklerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınınca tümör grubunda kontrol grubuna göre yukarı yönlü intron tutulumu belirlenen genlerin ShinyGO v0.80 analiz sonuçları	45
4.4.Meme Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin KEGG Yolak Analiz Sonuçları	47
4.5.Meme Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin GO Hücresel İçerik Yolak Analiz Sonuçları	51
4.6.Meme Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin GO Moleküler Fonksiyon Yolak Analiz Sonuçları	53
4.7.Meme Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin gProfilers Analiz Sonuçları	55
4.8.Meme Kanseri Örneklerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Aşağı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin ShinyGO v0.80 Analiz Sonuçları	56
4.9. Meme Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Aşağı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin GO Hücresel İçerik Yolak Analiz Sonuçları	58
4.10.Meme Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Aşağı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin GO Moleküler Fonksiyon Yolak Analiz Sonuçları	60
4.11.Meme Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Aşağı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin gProfilers Analiz Sonuçları	62
4.12.Kolorektal Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin KEGG Yolak Analiz Sonuçları.....	63

4.14.Kolorektal Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin GO Hücresel İçerik Yolak Analiz Sonuçları	68
4.15.Kolorektal Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin GO Moleküler Fonksiyon Yolak Analiz Sonuçları	70
4.16.Kolorektal Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin gProfilier Analiz Sonuçları	72
4.17.Mide Kanseri Örneklerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin ShinyGO v0.80 Analiz Sonuçları	73
4.18.Mide Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin KEGG Yolak Analiz Sonuçları	75
4.19.Mide Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin GO Biyolojik İşleyiş Yolak Analiz Sonuçları	78
4.20. Mide Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin GO Hücresel İçerik Yolak Analiz Sonuçları	80
4.21. Mide Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin GO Moleküler Fonksiyon Yolak Analiz Sonuçları	82
4.22.Mide Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin gProfilier Analiz Sonuçları	83
4.23. Akciğer Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin GO Hücresel İşleyiş Yolak Analiz Sonuçları	84

4.24. Akciğer Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin GO Hücresel İçerik Yolak Analiz Sonuçları	86
4.25. Akciğer Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin GO Moleküler Fonksiyon Yolak Analiz Sonuçları	88
4.26. Akciğer Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Aşağı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin GO Hücresel İşleyiş Yolak Analiz Sonuçları	89
4.27. Akciğer Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Aşağı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin GO Moleküler Fonksiyon Yolak Analiz Sonuçları	91
4.28.Akciğer Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin gProfil Analiz Sonuçları	92
4.29.Prostat Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Aşağı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin KEGG Yolak Analiz Sonuçları	93
4.30.Prostat Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Aşağı Yönlü İtron Tutulumu Belirlenen Genlerin GO Biyolojik İşleyiş Yolak Analiz Sonuçları	94
4.31.Prostat Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Aşağı Yönlü İtron Tutulumu Belirlenen Genlerin GO Hücresel İçerik Yolak Analiz Sonuçları	96
4.32.Prostat Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Aşağı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin gProfil Analiz Sonuçları	97
4.33. Algoritmalar arası Cohen Kappa Analiz sonuçları	98
4.34. Algoritmalara İlişkin İş Akış Diyagramı.....	102

5. TARTIŞMA	103
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	118
7. KAYNAKLAR	120

EKLER

ÖZGEÇMİŞ

İNTİHAL RAPORU



KISALTMALAR ve SİMGELER

AS	: Alternatif kırılma (Alternative splicing)
AUC	: Eğri altında kalan alan (Area under the curve)
AUPRC	: Hassasiyet ve duyarlılık eğrisi altında kalan alan (Area under precision recall curve)
BAM	: İkili hizalama haritası (Binary Alignment Map)
BED	: Tarayıcı Genişletilebilir Verileri (Browser Extensible Data)
CD4	: Farklılaşma kümesi (Cluster of differentiation 4)
CLK	: CDC benzeri kinaz (CDC like kinase)
CNN	: Evrişimli sinir ağı (Convolutional neural network)
COSMIC	: Kanserde Somatik Mutasyonlar Kataloğu (Catalogue of somatic mutations in cancer)
CSV	: Virgül ile ayrılmış değer (Comma separated values)
DNA	: Deoksiribonükleik asit
FPKM	: Milyon haritalanmış okuma başına transkriptin Kilobaz Başına Parça Sayısı (Fragments Per Kilobase of transcript per Million mapped reads)
GFF	: Genel özellik formatı (General feature format)
GO	: Gen ontoloji (Gene Ontology)
GTF	: Gen transfer formatı (Gene transfer format)
IR	: İntron tutulumu (Intron retention)
IRatio	: IR oranı
IDT	: Çekirdekte tutulan intron transkripti (Intron detained transcript)
IRT	: İntron tutan transkript (Intron retained transcript)
JR	: Bağlantı okuma (Junction Read)
KEGG	: Kyoto Genler ve Genomlar Ansiklopedisi (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)

KMA	: Keep Me Around
LINE	: Uzun Serpiştirilmiş Nükleer Elementler
LogFC	: Logaritmik kat değişimi (Log fold change)
MES	: Karşılıklı dışlanan kırılma (mutually-exclusive splicing MES)
mirton	: İntron türevli mikroRNA öncüsünün
mRNA	: mesajcı RNA (Messenger RNA)
MYC	: Myelocytomatosis oncogene
NCBI	: Biyoteknoloji bilgileri için ulusal merkez (National center for biotechnology information)
NE	: Normalize edilmiş entropi (Normalized Entropy)
NGS	: Yeni nesil dizileme (Next Generation Sequencing)
NMD	: Anlamsız aracılı bozunma (Non-mediated decay)
PIR	: İntron tutma yüzdesi (Percent of Intron Retention)
pre-mRNA	: Öncül RNA
PSI	: İçeri eklenmiş yüzde (Percent Splice In)
PTC	: Erken sonlandırma kodonu (Premature terminated codon)
qRT-PCR	: Gerçek zamanlı ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (Quantitative Real-Time Reverse Transcription PCR)
RNA	: Ribonükleik asit
RT-PCR	: Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Real-time polymerase chain reaction)
SES	: Tek ekzon atlaması (single-exon-skipping SES)
SINE	: Kısa Serpiştirilmiş Nükleer Elementler
snoRNA	: Küçük nükleolar RNA (Small nucleolar RNA)
SV	: Kırılma varyantları (Splicing Variants)
TCGA	: Kanser Genom Atlas (The Cancer Genome Atlas)

TMM	: M değerlerinin kırpılmış ortalaması (Trimmed Mean of M-values)
TNBC	: Triple negative breast cancer
TPM	: Milyonda transkript (Transcript per million)
TR	: Toplam okuma (Total read)
UTR	: Kodlanmayan bölge (Untranslated Region)



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2.1. IR'ye özel yazılımların alt küme listesi	15
Tablo 3.1. Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi'nden (National Center of Biotechnology Information, NCBI) analiz için uygun olduğu belirlenen kanser türlerine ait paired-end sekans verilerine ait bilgiler.	23
Tablo 4.1 Ham ve kırılmış okuma verilerine ait istatistiksel sonuçlar.	29
Tablo 4.2. Algoritmaların ait özellikler.	30
Tablo 4.3. IRFinder, IRfinder-S ve İREAD algoritmalarının kesişim kümesinde bulunan genler.	43
Tablo 4.4. Tüm algoritmaların ikili Cohen Kappa analiz sonuçları.	100

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Alternatif kırılmanın ortak mekanizmaları.....	4
Şekil 2.2.	İntron tutan transkriptlerin çeşitli akıbetleri.....	6
Şekil 2.3.	İntronlar, tekrarlayan dizilerde ekzonlardan daha zengindir.....	10
Şekil 2.4.	IR algılamanın bilişimsel tuzakları	11
Şekil 2.5.	Dünya’da 2020 yılında belirlenen yeni kanser vakalarının kanser tiplerine göre yüzdeleri	20
Şekil 2.6.	Türkiye’de 2015 yılında en sık görülen 10 kanser türü.	20
Şekil 4.1.	Meme kanseri verilerine ait kırılma sonrası fastqc grafiği.....	26
Şekil 4.2.	Servikal kanser verilerine ait kırılma sonrası fastqc grafiği.....	27
Şekil 4.3.	Kolorektal kanser verilerine ait kırılma sonrası fastqc grafiği.....	27
Şekil 4.4.	Mide kanseri verilerine ait kırılma sonrası fastqc grafiği	28
Şekil 4.5.	Akciğer kanser verilerine ait kırılma sonrası fastqc grafiği	28
Şekil 4.6.	Prostate kanser verilerine ait kırılma sonrası fastqc grafiği	29
Şekil 4.7.	Meme kanseri verilerinin kontrol grubuna göre yukarı (a) ve aşağı (b) yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına göre venn dağılımı.....	31
Şekil 4.8.	Meme kanseri verilerinin kontrol grubuna göre yukarı yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına Intervene Upset Plot grafiği	31
Şekil 4.9.	Meme kanseri verilerinin kontrol grubuna göre aşağı yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına Intervene Upset Plot grafiği	32
Şekil 4.10.	Servikal kanser verilerinin kontrol grubuna göre yukarı (a) ve aşağı (b) yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına göre venn dağılımı.....	33
Şekil 4.11.	Servikal kanser verilerinin kontrol grubuna göre yukarı yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına Intervene Upset Plot grafiği.....	33

Şekil 4.12. Servikal kanseri verilerinin kontrol grubuna göre aşağı yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına İntervene Upset Plot grafiği	34
Şekil 4.13. Kolorektal kanseri verilerinin kontrol grubuna göre yukarı (a) ve aşağı (b) yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına göre dağılımı.....	35
Şekil 4.14. Kolorektal kanseri verilerinin kontrol grubuna göre yukarı yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına İntervene Upset Plot grafiği	35
Şekil 4.15. Kolorektal kanseri verilerinin kontrol grubuna göre aşağı yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına İntervene Upset Plot grafiği	36
Şekil 4.16. Mide kanseri verilerinin kontrol grubuna göre yukarı (a) ve aşağı (b) yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına göre venn dağılımı.....	37
Şekil 4.17. Mide kanseri verilerinin kontrol grubuna göre yukarı yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına İntervene Upset Plot grafiği	37
Şekil 4.18. Mide kanseri verilerinin kontrol grubuna göre aşağı yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına İntervene Upset Plot grafiği	38
Şekil 4.19. Akciğer kanseri verilerinin kontrol grubuna göre yukarı (a) ve aşağı (b) yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına göre venn dağılımı	39
Şekil 4.20. Akciğer kanseri verilerinin kontrol grubuna göre yukarı yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına İntervene Upset Plot grafiği	39
Şekil 4.21. Akciğer kanseri verilerinin kontrol grubuna göre aşağı yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına İntervene Upset Plot grafiği	40
Şekil 4.22. Prostat kanseri verilerinin kontrol grubuna göre yukarı yönlü (a) ve aşağı (b) yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına göre venn dağılımı	41

Şekil 4.23. Prostat kanseri verilerinin kontrol grubuna göre yukarı yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına Intervene Upset Plot grafiği	41
Şekil 4.24. Prostat kanseri verilerinin kontrol grubuna göre aşağı yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına Intervene Upset Plot grafiği	42
Şekil 4.25. Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin özelliklerine ait grafikler	45
Şekil 4.26. Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin Genom üzerinde bulunduğu yerler (kırmızı ile belirtilenler).....	46
Şekil 4.27. Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin KEGG bar grafiği	47
Şekil 4.28. Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin KEGG ağaç grafiği.....	47
Şekil 4.29. Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin KEGG ağ grafiği	48
Şekil 4.30. Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin “KEGG - Notch Sinyal Yolağı” grafiği	48
Şekil 4.31. Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin “KEGG – Th1 ve Th2 Hücre farklılaşması” grafiği	49
Şekil 4.32. Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin “KEGG – Meme Kanseri” grafiği.....	50
Şekil 4.33. Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel içerik bar grafiği	51

- Şekil 4.34.** Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel içerik ağaç grafiği.....52
- Şekil 4.35.** Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel içerik ağ grafiği 52
- Şekil 4.36.** Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Moleküler fonksiyon bar grafiği.....53
- Şekil 4.37.** Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Moleküler fonksiyon ağaç grafiği 53
- Şekil 4.38.** Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Moleküler fonksiyon ağ grafiği.....54
- Şekil 4.39.** Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin gProfiler g:GOS t fonksiyonel profillem grafiği 55
- Şekil 4.40.** Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin KEGG bar grafiği.....56
- Şekil 4.41.** Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin “KEGG Proteazom Yolağı” grafiği 57
- Şekil 4.42.** Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel içerik bar grafiği.....58
- Şekil 4.43.** Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel içerik ağaç grafiği.....58
- Şekil 4.44.** Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun düşük olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel içerik ağ grafiği 59

- Şekil 4.45.** Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin GO Moleküler fonksiyon bar grafiği..... 60
- Şekil 4.46.** Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin GO Moleküler fonksiyon ağaç grafiği 60
- Şekil 4.47.** Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin GO Moleküler fonksiyon ağ grafiği 61
- Şekil 4.48.** Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin gProfiler g:GOSst fonksiyonel profillem grafiği 62
- Şekil 4.49.** Kolorektal kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin KEGG bar grafiği 63
- Şekil 4.50.** Kolorektal kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin KEGG ağaç grafiği 63
- Şekil 4.51.** Kolorektal kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin KEGG ağ grafiği..... 64
- Şekil 4.52.** Kolorektal kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin “KEGG Kanseri Yolu” grafiği..... 65
- Şekil 4.53.** Kolorektal kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Biyolojik işleyiş bar grafiği 66
- Şekil 4.54.** Kolorektal kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Biyolojik işleyiş ağaç grafiği 67
- Şekil 4.55.** Kolorektal kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Biyolojik işleyiş ağ grafiği..... 67

- Şekil 4.56.** Kolorektal kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel içerik bar grafiği 68
- Şekil 4.57.** Kolorektal kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel içerik ağaç grafiği 69
- Şekil 4.58.** Kolorektal kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel içerik ağ grafiği..... 69
- Şekil 4.59.** Kolorektal kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Moleküler fonksiyon bar grafiği 70
- Şekil 4.60.** Kolorektal kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Moleküler fonksiyon ağaç grafiği.. 70
- Şekil 4.61.** Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Moleküler fonksiyon ağ grafiği..... 71
- Şekil 4.62.** Kolorektal kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin gProfiler g:GOST fonksiyonel profillem grafiği 72
- Şekil 4.63.** Mide kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin özelliklerine ait grafikler 73
- Şekil 4.64.** Mide kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin Genom üzerinde bulunduğu yerler (kırmızı ile belirtilenler)..... 74
- Şekil 4.65.** Mide kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin KEGG bar grafiği..... 75
- Şekil 4.66.** Mide kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin KEGG ağaç grafiği..... 75

- Şekil 4.67.** Mide kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin KEGG ağ grafiği 76
- Şekil 4.68.** Mide kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin “KEGG – Protein Sindirimi ve Emilimi” grafiği 76
- Şekil 4.69.** Mide kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin “Diyabetik komplikasyonlarda AGE-RAGE sinyal yolu” grafiği 77
- Şekil 4.70.** Mide kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Biyolojik İşleyiş bar grafiği 78
- Şekil 4.71.** Mide kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Biyolojik İşleyiş ağ grafiği 78
- Şekil 4.72.** Mide kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Biyolojik İşleyiş ağ grafiği 79
- Şekil 4.73.** Mide kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin Hücrel İçerik bar grafiği 80
- Şekil 4.74.** Mide kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin Hücrel İçerik treerplot grafiği 80
- Şekil 4.75.** Mide kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Hücrel İçerik ağ grafiği 81
- Şekil 4.76.** Mide kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Moleküler Fonksiyon bar grafiği 82
- Şekil 4.77.** Mide Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin gProfiler Analiz Sonuçları 83

- Şekil 4.78.** Akciğer kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel işleyiş bar grafiği.....84
- Şekil 4.79.** Akciğer kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel işleyiş ağaç grafiği.....84
- Şekil 4.80.** Akciğer kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel işleyiş ağ grafiği 85
- Şekil 4.81.** Akciğer kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel içerik bar grafiği 86
- Şekil 4.82.** Akciğer kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel içerik ağaç grafiği.....86
- Şekil 4.83.** Akciğer kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel içerik ağ grafiği 87
- Şekil 4.84.** Akciğer kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Moleküler fonksiyon bar grafiği.....88
- Şekil 4.85.** Akciğer kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Moleküler fonksiyon ağaç grafiği 88
- Şekil 4.86.** Akciğer kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Moleküler fonksiyon ağ grafiği 89
- Şekil 4.87.** Akciğer kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel işleyiş bar grafiği.....89
- Şekil 4.88.** Akciğer kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel işleyiş ağaç grafiği.....90

- Şekil 4.89.** Akciğer kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel işleyiş ağ grafiği 90
- Şekil 4.90.** Akciğer kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin GO Moleküler fonksiyon bar grafiği.....91
- Şekil 4.91.** Akciğer kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin GO Moleküler fonksiyon bar grafiği.....91
- Şekil 4.92.** Akciğer Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin gProfil Analiz Sonuçları 92
- Şekil 4.93.** Prostat kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin KEGG bar grafiği 93
- Şekil 4.94.** Prostat kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin KEGG ağaç grafiği.....93
- Şekil 4.95.** Prostat kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin KEGG ağ grafiği. 93
- Şekil 4.96.** Prostat kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin GO Biyolojik işleyiş bar grafiği 94
- Şekil 4.97.** Prostat kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin GO biyolojik işleyiş ağ grafiği 95
- Şekil 4.98.** Prostat kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin GO biyolojik işleyiş ağ grafiği 95
- Şekil 4.99.** Prostat kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin GO hücresel içerik bar grafiği.....96

Şekil 4.100. Prostat kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin GO hücresel içerik ağaç grafiği.....	96
Şekil 4.101. Prostat Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Aşağı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin gProfiler Analiz Sonuçları	97
Şekil 4.102. Tüm algoritmalarda intron tutulumu yüksek ortak bulunan gen bölgelerinin Cohen Kappa değeri ısı haritaları. a) meme, b) servikal, c) kolorektal, d) mide, e) akciğer, f) prostat	98
Şekil 4.103. Tüm algoritmalarda intron tutulumu düşük ortak bulunan gen bölgelerinin Cohen Kappa değeri ısı haritaları. a) meme, b) servikal, c) kolorektal, d) mide, e) akciğer, f) prostat	99
Şekil 4.104. Çalışmadan elde edilen sonuçlar ve literatür bilgisine göre oluşturulan iş akış diyagramı	102

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Alternatif kırılma tiplerinden biri olan intron tutulumu (intron retention, IR), bir intron pre-mRNA'da ve son mRNA'da kaldığında meydana gelir. Bu olayların güvenilir bir şekilde ölçülmesi zor olduğu için genellikle ihmal edilen bir alternatif kırılma sınıfını oluşturur. IR'nin memelilerde daha önce tahmin edilenden çok daha sık olduğunu ve çoğu genin transkriptlerini etkilediğinin belirlendiği bildirilmiştir. Alternatif kırılmanın yanlış düzenlenmesi de kanserlerle ilişkilidir ve kırılma faktörlerindeki anormal ekspresyon veya mutasyonların tümör oluşumuna katkıda bulunduğu bildirilmiştir. Özellikle de, IR'nin kanserlerde tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonunun yaygın bir nedeni olarak tanımlandığı bildirilmiştir. IR'nin sayısız sistemde yüzlerce geni düzenleyebildiğine dair artan kanıtlara rağmen, mevcut çalışmalar transkriptomik verilerinde IR olaylarını hala tanımlayamamaktadır. Biyoinformatik algoritma araçları ile intron tutulumunun tespitinde karşılaşılabilecek birçok karıştırıcı faktör bulunmaktadır. Bunlara örnek olarak kapsam derinliği, intron bölgelerindeki tekrar bölgelerinin ekson ekson bağlanma bölgelerinde de bulunması, smallRNA'ların ekspresyonunun intron tutulumu ile karıştırılabilmesi, antisens transkriplerin tutulmuş intron gibi algılanabilmesidir. Bu sebeple IR tespiti için öncelikle verilerin uygunluklarının tespitinin gerektiği bildirilmiştir. Intron tutulumunu tarafsız bir şekilde belirleyebilmek için birçok algoritma farklı eşik değeri, ölçüm formülleri ve metrikler kullanılarak geliştirilmiştir. Bu çalışmanın amacı ise intron tutulumunun belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan IRFinder, IRFinder-S, iREAD ve Whippet algoritmalarını inceleyerek, genel erişime açık altı farklı RNA-seq kanser verilerinin (Meme-Triple Negative Breast Cancer-TNB, Servikal, Kolorektal, Mide, Akciğer, Prostat) analizi ile algoritmalar arasındaki farklılıkları var olan literatür ile

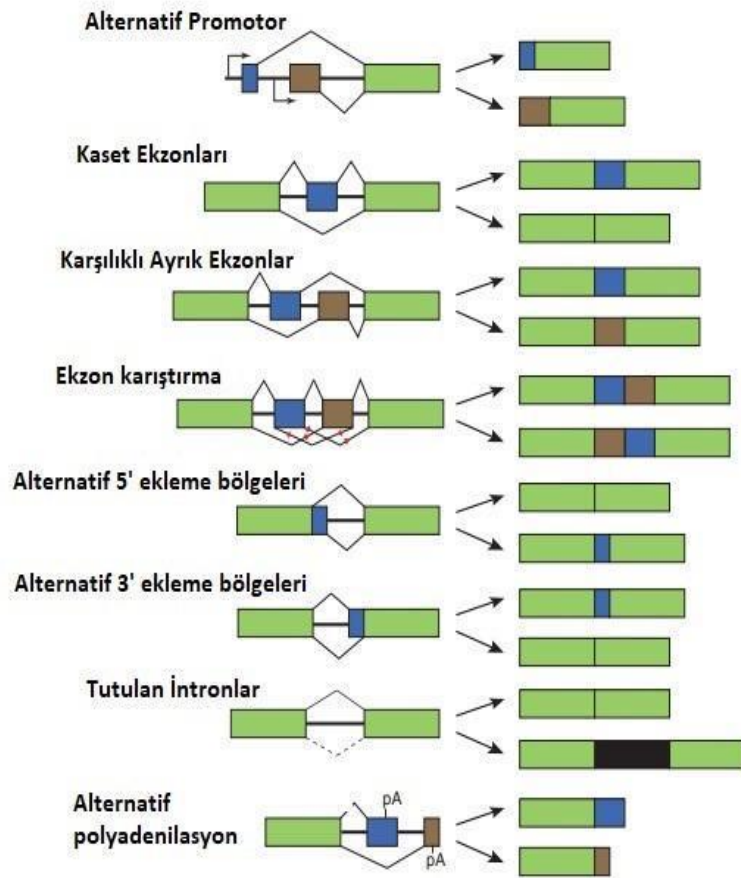
değerlendirmektir. Ayrıca algortimaların kullanım kolaylığını sağlamak için iş yönergesinin oluşturulması da amaçlanmıştır.



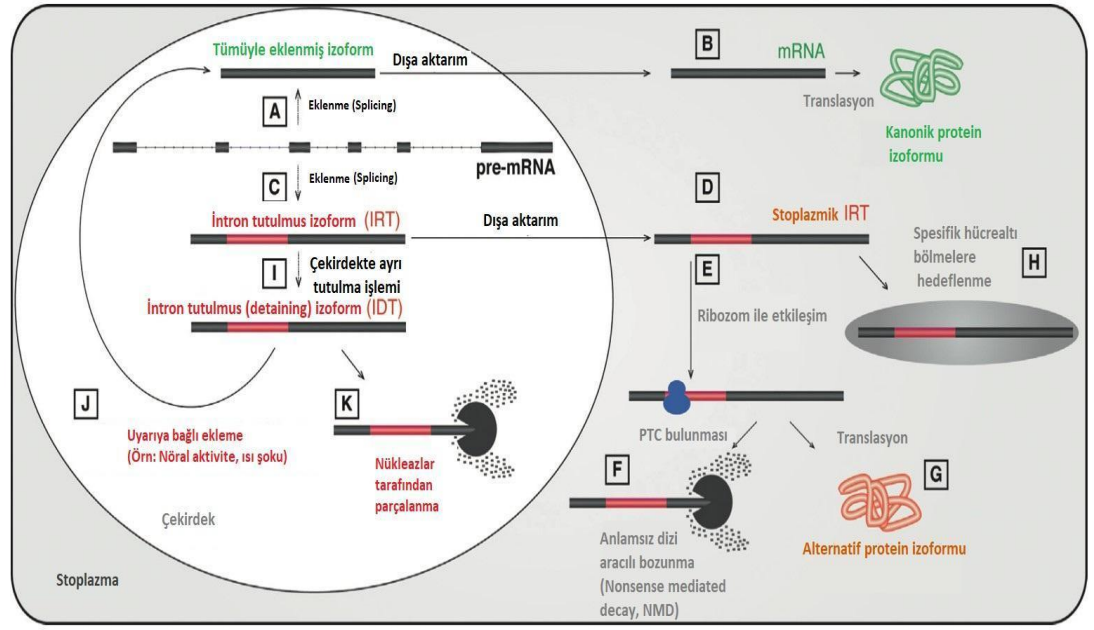
2. GENEL BİLGİLER

İnsan genom projesinin tamamlanmasıyla 20.000'den fazla protein kodlayan gen tanımlanmış olmasına rağmen, bu sayının başlangıçta beklenenden çok daha az olduğu belirlenmiştir. Daha sonra yapılan araştırmalar, protein kodlayan genlerin sayısının sınırlı olmasına rağmen, alternatif kırılma (Alternative splicing, AS) ile farklı transkriptlerin üretildiğini ve bunun da farklı işlevlere sahip çok sayıda proteine yol açtığını ortaya koymuştur. Aslında, insan genlerinin yaklaşık %95'inin alternatif olarak eklenebildiği bildirilmiştir (Wang ve ark., 2008; Lee ve ark., 2015). Alternatif kırılma, birincil transkriptlerdeki kırılma bölgelerinin, çoklu mRNA ve protein izoformları üretmek için farklı şekillerde kullanıldığı yaygın bir işlemdir (Pan ve ark., 2008; Wang ve ark., 2008; Nilsen ve Graveley, 2010). Ökaryotik gen ekspresyonunda önemli bir adım olan pre-mRNA kesip birleştirme, birincil transkript intron uçlarındaki kısa dizilerin tanınmasına dayanır ve RNA polimeraz II tarafından transkripsiyon boyunca gerçekleşir. Eksonik ve intronik yardımcı elemanlar, ekzon tanımanın ve intron tanımanın gücünü değiştirebilir (Dufner ve ark., 2019). RNA'nın alternatif eklenmesi, genetik çeşitliliği desteklemek için neredeyse tüm multieksonik genleri etkiler (Black, 2000; Pan ve ark., 2008). Alternatif kırılma, "Spliceosomes" olarak adlandırılan üretken kırılma komplekslerinin birleştirilmesini teşvik etmeye veya bastırmaya hizmet eden cis- ve trans-etkili faktörlerin karmaşık etkileşimi tarafından düzenlenir. Farklı alternatif kırılma varyantları Şekil 2.1'de gösterilmiştir. Alternatif "kaset" ekzon kırılmanın hayvanlarda en sık görülen AS tipini temsil ettiği ve normal ve hastalık biyolojisinin çeşitli yönlerinin kontrolünde rol oynadığı düşünülmüştür (Kalsotra ve Cooper, 2011; Irimia ve Blencowe, 2012). Ancak daha sonra yapılan çalışmalar ile kırılma varyantları (Splicing Variants, SV) olarak adlandırılan bu varyantlar, kanonik intron bölgelerinde insan genetik hastalıklarıyla, ayrıca anlamsız, yanlış anlamlı veya eş

anlamalı varsayılan olarak sınıflandırılan eksonik varyant kırılmaları ile ilişkilendirilmiştir (Dufner ve ark., 2019). Kırılmış mRNA çıktıları hem içsel hem de dışsal faktörlerin kombinatoriyal etkilerinden kaynaklandığından, insan Mendel kalıtım hastalıkları için SV patojenite değerlendirmesine yardımcı olmak için hesaplamalı analizlerle desteklenen in vitro fonksiyonel analizler önerildiği bildirilmiştir (Dufner ve ark., 2019). Alternatif kırılmanın yanlış düzenlenmesinin kanserlerle ilişkili olduğu ve kırılma faktörlerindeki anormal ekspresyon veya mutasyonların tümör oluşumuna katkıda bulunduğu bilinmektedir (Anczuków ve Krainer, 2016).



Şekil 2.1. Alternatif kırılmanın ortak mekanizmaları. Bir dizi farklı süreç olmasına ve farklı olgun transkriptlere yol açmasına rağmen alternatif kırılma meydana gelebilir (sağda). Eksonlar ve son transkriptler kutular olarak gösterilirken çizgiler intronları temsil eder. Yapısal olarak ifade edilen eksonlar yeşil olarak gösterilir ve alternatif olarak eklenmiş eksonlar mavi veya kahverengi olarak gösterilir. Tutulan intronlar, son transkripte dahil edilen araya giren intron (siyah) ile, kırılma yokluğunda meydana gelir (Chen ve ark., 2015)



Şekil 2.2. İntron tutan transkriptlerin çeşitli akıbetleri

A) Kırılma, bir pre-mRNA molekülünden tüm intronik dizinin çıkarılmasıyla sonuçlanır. B) mRNA daha sonra sitoplazmaya aktarılır ve burada kanonik protein izoformuna çevrilir. C) IR bir veya daha fazla introna karşılık gelen sekans, pre-mRNA molekülünden eklenmediğinde meydana gelir ve bir intron tutan transkripte (intron retained transcript, IRT) yol açar. D) IRT'ler sitoplazmaya aktarılabilir, burada (E) ribozom ile etkileşime girebilir ve (F) erken bir sonlandırma kodonu (Premature termination codon, PTC) ile karşılaşılırsa NMD'ye veya (G) alternatif protein izoformlarına yol açacak şekilde çevrilebilir. (H) Sitoplazmik IRT'ler, depolandıkları veya çevrildikleri belirli hücre altı bölmelerine hedeflenebilir. (I) Alternatif olarak, bir IRT çekirdekte sekestre edilebilir - bu durumda buna bir intron tutucu transkript (Intron detained transcript, IDT) denir. Bu IDT, (J) uyarıcıya bağlı eklemeye veya (K) bozulmasına tabi olabilir (Vanichkina et al., 2018).

İntron tutan transkriptler genellikle erken bir sonlandırma kodonu (PTC) içerir ve bu nedenle ya anlamsız dizi NMD yolu tarafından bozunma için hedeflenir ya da ifadeleri çekirdekle sınırlıdır (Lejeune ve Maquat, 2005). IR ile ilişkili biyolojik fonksiyonun izole örneklerine (Bell ve ark., 2008, 2010; Buckley ve ark., 2011) rağmen, IR normal gen düzenlemesinin bir aracı olarak göz ardı edilmiştir (Hillman ve ark., 2004; Bicknell ve ark., 2012). İntron tutulumuna bir örnek olarak yapılan çalışmada, sıçan nöroblastom

hücre hattında tutulan bir dizi intronun, gen nöral ilişkili fonksiyonlarını negatif olarak düzenlediğini göstermiştir (Yap ve ark., 2012). Buna karşılık, başka bir IR olayı dizisinin, büyük ölçüde anlamsız aracılı NMD süreci yoluyla, granülosit olgunlaşması için önemli olan transkript seviyelerini kontrol ettiğinin belirlendiği bildirilmiştir (Wong ve ark., 2013). Dolayısıyla farklı IR olaylarının, farklı mekanizmalar yoluyla gen ekspresyonunu kontrol ettiğini göstermektedir. Bununla birlikte, IR'nin bu ve muhtemelen ek mekanizmalar yoluyla gen ekspresyonunu düzenlemek için farklı birincil hücreler ve dokular arasında ne ölçüde çalıştığı tam olarak bilinmemektedir. Bu sebeple yapılan bir çalışmada; 40'tan fazla farklı insan, fare hücre ve doku türünden yüksek kapsamlı poli(A)+ RNA-seq verilerine IR tespiti için yeni bir pipeline uygulayarak, memelilerde kapsamlı bir IR analizi gerçekleştirilmiştir. Buna göre IR'nin memelilerde daha önce tahmin edilenden çok daha sık olduğunu ve çoğu genin transkriptlerini etkilediğinin belirlendiği bildirilmiştir (Braunschweig ve ark., 2014).

IR'nin, tavuk ve kurbağadan ornitorenk ve insana kadar değişen 11 hayvan türünde multieksonik genlerin %50-75'inde meydana geldiği bildirilmiştir (Braunschweig ve ark., 2014). IR'nin, fare korteksinde eksprese edilen genlerin yaklaşık %5-6'sında da bulunduğu bildirilmiştir (Mauger ve ark., 2016). Ayrıca yapılan bir dizi araştırmada; hematopoietik hücreler (Cho ve ark., 2014; Edwards ve ark., 2016; Ni ve ark., 2016; Pimentel ve ark., 2016; Wong ve ark., 2013), nöronlar (Braunschweig ve ark., 2014; Yap ve ark., 2012), meme epitel hücreleri (Gascard ve ark., 2015) ve düz kas hücreleri (Llorian ve ark. 2016) gibi gelişimsel olarak düzenlenen gen ekspresyon programlarının bir parçası olarak IR'de kapsamlı değişiklikler belgelenmiştir. Ek olarak, ısı şokuna (Shalgi ve ark., 2014), nöronal aktivasyona (Mauger ve ark., 2016), CLK kinazların inhibisyonuna (Boutz ve ark., 2015), DNA hasarına (Shalgi ve ark., 2014; Boutz ve ark., 2015), tümör hipoksisi (Memon ve ark., 2016) ve çeşitli kanserlere de (Dvinge ve Bradley, 2015; Jung ve ark., 2015) yanıt olarak birlikte düzenlenmiş IR programları gözlemlenmiştir. Bu araştırmaların karşılaştırılması, IR aracılı düzenlemenin hem ortak hem de programa özgü özelliklerini ortaya koymaktadır. IR analizi için bildirilen algoritmalarından IRFinder kullanarak, 2573'ü analiz için uygun olan 3435 insan örneği analiz edilmiş ve IR'nin analiz edilen tüm dokularda yüzlerce gende meydana geldiği, tüm kodlayan genlerin %80'inden fazlasını etkilediğini ve hücre farklılaşması ve hücre döngüsü ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Aynı genlerde tutulan intronların sıklıkla

birbirine bitişik ve intronu tutan genlerin genom üzerinde yakın bir şekilde kümelandığı, bunun da birden fazla intronu aynı anda düzenleyen küresel bir mekanizma ile ilişkili olduğunun düşünüldüğü bildirilmiştir (Middleton ve ark., 2017).

Koordineli IR programlarının tutarlı bir özelliği, IR olaylarının büyük çoğunluğunun aynı yönde değişmesidir. Bu asimetrik tepkinin, hücrel farklılaşma, hücre aktivasyonu, stres veya kanser sırasında belirgin olduğu ve genellikle artan dahil etme veya atlama ile benzer sayıda olay gösteren kaset ekzonları gibi diğer alternatif eklemiş ekzon tipleriyle tam bir zıtlık içinde olduğu bildirilmiştir. Gelişimsel olarak düzenlenen programlarda, yaygın eğilimin, daha farklılaşmış veya hareketsiz hücre durumunda artan intron tutulması yönünde olduğu bildirilmiştir (Braunschweig ve ark., 2014; Cho ve ark., 2014; Edwards ve ark., 2016; Gascard ve ark., 2015; Llorian ve ark., 2016; Ni ve ark., 2016; Pimentel ve ark., 2015, 2016; Wong ve ark., 2013). Bununla birlikte, yüksek bir intron tutma yüzdesinin (Percent of Intron Retention, PIR) durumu, mutlaka terminal farklılaşmasının bir göstergesi olmadığı bildirilmiştir. CD4+ T hücrelerinin aktivasyonu (Ni ve ark., 2016) ve düz kas hücrelerinin proliferatif durumlara doğru farklılaşmasının (Llorian ve ark., 2016) IR'de dramatik düşüşleri tetiklediği bildirilmiştir. Çok sayıda rapor, hücrel gelişim safhası IR için düzenleyici bir rol göstermiştir. Ek olarak, 1812 kanser hastası örneğinin analizi, kırılma ile ilişkili tek nükleotid varyantlarının %18'den fazlasının IR'ye neden olduğunu ve bu olayların çoğunun tümör baskılayıcı genleri etkilediğini göstermiştir (Boutz ve ark., 2015). 2573 örneğin analizi, IR'nin analiz edilen tüm dokularda meydana geldiğini ve tüm kodlayan genlerin %80'inden fazlasını etkileyebileceğini göstermiştir (Middleton ve ark., 2017). Dolayısıyla IR'yi ölçmenin, transkripsiyonel yükler, yapısal varyasyonlar ve fenotipler arasındaki gen seviyesindeki varyasyonları ve ara bağlantıları deşifre etmeye yardımcı olabileceği bildirilmiştir (Odham ve ark., 2017).

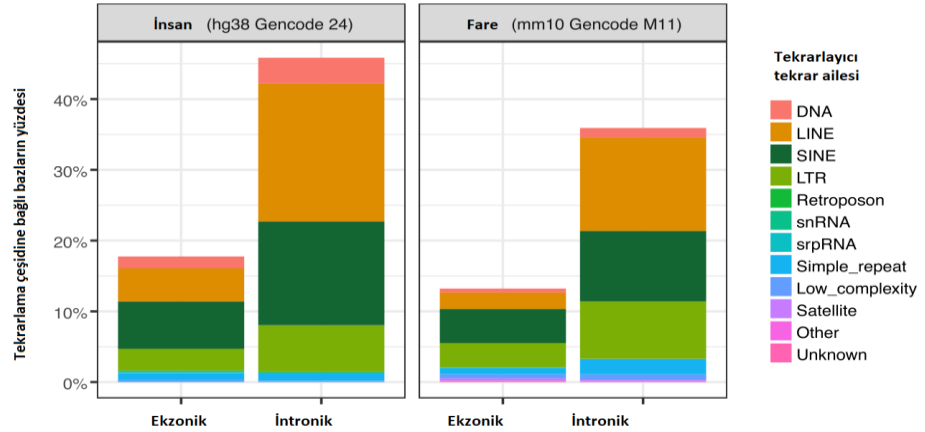
Gen ekspresyonunun karmaşıklığını kontrol eden ve artıran bağımsız bir mekanizma olarak ortaya çıkan IR'nin, biyolojik uyarılara hızlı tepkileri kolaylaştırdığı, hastalık patogenezinde yer aldığı ve yeni protein izoformları üretebildiği bildirilmiştir. Bununla birlikte, tutulan intronların saptanması ve nicelendirilmesinde ve bunların hücrel fenotip üzerindeki etkilerinin belirlenmesinde birçok zorluğun devam ettiği bildirilmiştir (Vanichkina ve ark., 2018). Ayrıca intronların kendilerinin, küçük nükleolar RNA'lar (smallnucleolarRNA, snoRNA) (Hirose ve ark., 2001) ve

mikroRNA'lar (Kim ve ark., 2007) gibi düzenleyici kodlamayan RNA'lar dahil olmak üzere cis ve trans-etkili elementler içerebileceği de bildirilmiştir. Bu RNA transkriptlerinin fiziksel olarak intronik bölgede bulunurken, konak genlerinden bağımsız olarak kopyalanabileceği bildirilmiştir (Lutter ve ark., 2010; Gao ve ark., 2012). IR'ler için önerilen diğer işlevler arasında, intron türevli mikroRNA öncüsünün (mirtron) ve snoRNA ekspresyonunun düzenlenmesi ve rekabet eden endojen RNA gibi davranarak transkripsiyon sonrası gen düzenlemesinin modülasyonu yer alır (Wong ve ark., 2016). Ancak, bu işlevler henüz deneysel olarak doğrulanmamıştır. IR'nin, genomik düzeyde karşılık gelen intronik sekans üzerinde RNA Pol II'nin artan doluluk oranıyla ve çekirdek kırılma faktörlerinin azaltılmış seviyeleriyle sıkı bir şekilde bağlantılı olduğunu gösterilmiştir. Dolayısıyla sonuçların, azaltılmış kırılma faktörü alımının bir sonucu olarak Pol II ve IR arasındaki çift yönlü çapraz konuşmanın, memeli hücresi ve doku transkriptomlarının fonksiyonel düzenlenmesine katkıda bulunan önemli ve yaygın bir mekanizma olduğu bildirilmiştir (Braunschweig ve ark., 2014).

IR'nin sayısız sistemde yüzlerce geni düzenleyebildiğine dair artan kanıtlara rağmen, mevcut çalışmalar transkriptomik verilerinde IR olaylarını hala tanımlayamamaktadır. Bu sebeple IR tespiti için öncelikle verilerin uygunluklarının tespitinin gerektiği bildirilmiştir (Middleton ve ark., 2017). Uygun olmayan numunelerde genellikle yüksek DNA kontaminasyonu, genom dizilimi veya CHIP-seq gibi deney türlerinde mRNA dizilimlerinin yanlış etiketlenmiş olabileceği bildirilmiştir (Middleton ve ark., 2017).

IR tespiti için en sık kullanılan teknoloji RNA dizilemesidir (RNA-sequencing, RNA-Seq) (Edwards ve ark., 2016; Pimentel ve ark., 2015; Schmitz ve ark., 2017; Wong ve ark., 2013). Bununla birlikte, bu teknoloji ile IR'nin saptanması ve ölçülmesi, genel gen ekspresyonu seviyelerinin veya diğer alternatif kırılma biçimlerinin ölçülmesinden daha karmaşıktır. İtron tutulumunun belirlenmesinde yapısal zorluklar bulunmaktadır. Bu zorlukların başında intronların, eksonik bölgeler olarak bu elementlerin yoğunluğunu iki katından fazla içeren tekrarlayan diziler açısından zengin olması gelmektedir (Şekil 2.3.). Bunlara Uzun ve Kısa Serpiştirilmiş Nükleer Elementler (LINE'lar ve SINE'ler), DNA transpozonları, tandem ve düşük karmaşıklıkla tekrar dizileri de dahildir. Bu genomik özelliklerin çoğu, mevcut yüksek verimli RNA dizileme teknolojilerinin 75-150 nükleotid okuma uzunluğu karakteristiğinden daha

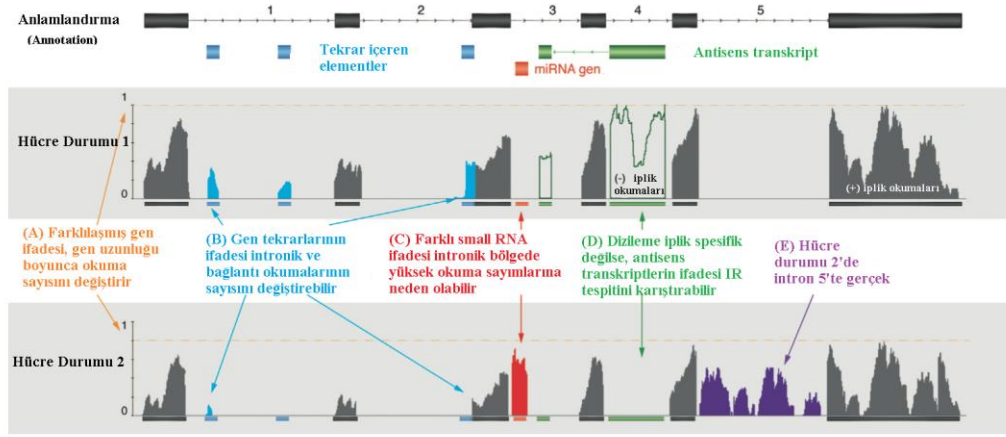
uzundur. Tophat2 (Kim ve ark., 2013), STAR (Dobin ve ark., 2013) ve MapSplice (Wang ve ark., 2010) gibi RNA ile optimize edilmiş haritalama algoritmaları, bu haritayı belirli bir eşikten daha fazla yere okumaları atmak için filtrelere sahip olduğundan, bunun benzersiz bir zorluk sunduğu bildirilmiştir.



Şekil 2.3. İntronlar, tekrarlayan dizilerde ekzonlardan daha zengindir. Hem insan hem de fare genomlarında, intronik bölgeler, ekzonik bölgelere göre orantılı olarak daha fazla tekrarlayan dizi içerir. RepeatMasker (RepeatMasker) ek açıklamaları, insan ve fare Gencode (Harrow ve ark., 2012; Mudge ve Harrow, 2015) ekzonik ve intronik bölgeleriyle BEDTools (Aaron ve ark., 2010) kullanılarak kesiştirilmiş ve her bir tekrar tipinin kapsadığı bazların oranı hesaplanmış ve tidyverse ve ggplot2 (Wickham, 2009) kullanılarak görselleştirildiği bildirilmiştir (Vanichkina ve ark., 2018)

Ayrıca, birden fazla konuma eşlenmiş okumalarını saymanın zor olduğu bildirilmiştir (Şekil 2.4). Nitekim, Bai ve ark. (2015), çoklu konumlara okuma eşlemeyi göz önünde bulundurmanın IR arama ve analizine “gürültü” getirdiğini öne sürmüşlerdir. Ancak, çoklu eşleme okumalarının hariç tutulması ile biyolojik olarak önemli bilgilerin kaybına yol açabileceği bildirilmiştir. Örneğin, tekrarlayan dizilerin, sıçan nöronlarında tutulan intronların kritik fonksiyonel bileşeni olduğu bildirilmiştir (Buckley ve ark., 2011). Bu durumda da, tutulan intronlardaki SINE retrotranspozonları ile sitoplazmik mRNA'ların dendritleri hedeflenmesi için gerekli ve yeterli olduğu bildirilmiştir, 3' kodlanmayan bölgedeki (Untranslated Region, UTR) benzer tekrar elementlerinin RNA hücre altı lokalizasyonunu değiştirmeyeceği bu nedenle, IR tanımlaması için herhangi bir biyoinformatik araç ve genomdaki çoklu haritalama okumaları ve tekrarlayan diziler ile başa çıkmak için bir yaklaşım içermeyen farklılaşmış analizin, muhtemelen önemli,

işlevsel olarak ilgili biyolojik karmaşıklığı gözden kaçırabileceği bildirilmiştir (Vanichkina ve ark., 2018).



Şekil 2.4. IR algılamanın bilişimsel tuzakları

İki hücresel durum arasındaki farklılaşmış IR'den etkilenen bir genin şeması. (A) Farklılaşmış ekspresyon, tüm gen gövdesi boyunca okumaların normalize edilmiş yoğunluğunu değiştirir, bu da hücre durumu 1'de 2'den daha iyi kapsama alanı sağlar. Bu farklılıkların dikkate alınmaması, IR saptama ve kantifikasyonunu önleyebilir veya saptırabilir. (B) Kapsam filtreleri ve yeterli çoklu eşleme okuma işlemesi uygulanmadıkça, intron 1 ve 2'deki tekrarlayan öğelerin ifadesi, sahte intronik ve bağlantı okuma sayılarına neden olabilir. (C) Bu filtreler ayrıca intron 3'te barındırılan miRNA'nın farklılaşmış ifadesinin bu intron için IR değerlendirmesine katkıda bulunmasını engellemelidir. (D) Hücre durumu 1'de ifade edilen ve hücre durumu 2'de ifade edilen 3–4 intronlarında barındırılan antisens transkript de analizi karıştırabilir, çünkü sonraki kapsama filtrelemesi ile yalnızca sense RNA-sekansısı bu fenomenin tanımlanmasına izin verebilir. (E) Kullanılan bilişim hattının duyarlılığı ve özgüllüğü yeterliyse, yalnızca hücre durumu 2'deki intron 5, farklılaşmış olarak tutulmuş olarak rapor edilmesi gerekmektedir (Vanichkina ve ark., 2018).

Intronlar ekzonlardan önemli ölçüde daha uzundur ve bazı memelilerde 500 kbp'ye kadar ulaşır. Bu nedenle, tüm uzunlukları boyunca yeterli okuma kapsamını elde etmek için bunları eşit olarak “örnekleme” zordur. İnsanlarda, ekzonların ortalama boyutu 150 nükleotittir ve intronlarınkı 3500 nükleotittir (Wu ve ark., 2009) bu çoğu ekzonun

mevcut 150 bp çift uçlu dizileme yaklaşımları tarafından tamamen kapsandığı, ancak intronların kapsamadığı anlamına gelir. Bu zorlukla başa çıkmak için iki zıt strateji vardır. Birinci strateji olan kısa okuma dizileme verilerinden yalnızca splice-junction analiz yaklaşımının tuzakları arasında okuma derinlikleri bulunmaktadır. İkinci strateji olan kısa okuma dizileme verilerinden IR analizine dayalı kapsama tabanlı yaklaşımın tuzaklarında ise ortalama yada medyan değerlerinin hangisinin alınacağı ayrıca bölgede bulunacak microRNA'ların yada snoRNA'ların ekspresyonunun varlığının da kapsam eşiklerinin daha dikkatli belirlenmesi gerektiği üzerinde durulmuştur (Vanichkina ve ark., 2018).

Genel olarak, IR saptama ve nicelemenin değerli olduğu iki ana deney türü birincisinin, IR analizinin deneysel hipotezin temel bir unsuru olduğu bir de novo mRNA-seq deneyi olduğu ikinci senaryonun ise IR tespiti için herkese açık veriler dahil olmak üzere mevcut RNA-seq verilerinin yeniden analizi olduğu bildirilmiştir. IR keşif deneyleri için numune özgüllüğünün (örneğin hücre sınıflandırması yoluyla) elde edilmesini ve poli-A seçiminin ardından toplam ve sitoplazmik RNA'nın izole edilmesini önerildiği bildirilmiştir. Ayrıca, en az 100 M okumalık bir sıralama derinliğine sahip, çift uçlu 150 bp, ipliğe özgü bir kitaplığın kullanılmasını ve bunun üçüncü nesil, uzun okumalı sıralama teknolojilerini kullanarak sıralama ile birleştirilmesi önerilmiştir (Grabski ve ark., 2021).

IR keşfi ve analizi için mevcut mRNA-seq veri kümelerinin doğrulanmasında önemli faktörler bulunmaktadır. Analizden sonra aşağı akış IR keşif verilerinin sağlam bir şekilde yorumlanmasını sağlamak için kullanılan örnek hazırlama, RNA izolasyonu ve sıralama kitaplığını doğrulama işlemi herkese açık veriler dahil mevcut verileri kullanırken de eşit derecede önemli olduğu bildirilmiştir. Ekson-ekson bağlantılarına giden harita okumalarından farklı olarak, intronlara giden haritanın, etkisiz DNaz uygulamasının neden olduğu DNA kontaminasyonundan veya yeni oluşan pre-mRNA'nın varlığından kaynaklanabilecekleri de bildirilmiştir. De novo deneylere gelince, Poly-A⁺ mRNA ve tek zincirli ipliğe özgü protokolleri kullanan veri kümelerinin seçilmesinin önerildiği bildirilmiştir (Zhao ve ark., 2018).

Verilerin DNA Elementleri Ansiklopedisi (ENCODE), The Cancer Genome Atlas (TCGA) veya Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (NCBI) arşivleri gibi harici bir

kaynaktan indirilmesi durumunda, kontaminasyonu ve zincir niteliği belirsiz okumaları da hesaplamalı olarak ölçerek IR tespitine uygun olup olmadıklarını doğrulamak mümkündür. Bu, kırılma bölgelerindeki okuma sayısı sayılarak ve intronların çoğunluğunun yüksek ekleme-kırılma verimliliği (%90'ın üzerinde) gösterdiğini kontrol ederek doğrulanabilir (Khodor ve ark., 2011). Ayrıca, kodlama bölgeleriyle eşleşen okuma sayısı ile genler arası bölgelerle eşleşen okuma sayısı arasındaki oranın 10'dan büyük olduğu doğrulanmalıdır. Ek olarak, doğru iplik yönünden bağımsız bir ölçü olarak, açıklamalı transkriptin ters yönünde ekzon-ekzon bağlantılarına eşlenen okumalar, tüm okumaların %10'undan az olmalıdır (Middleton ve ark., 2017). IR algılamının girdi olarak bam veya fastq dosyaları gerektirdiği belirtilmiştir.

IR'nin bilgisayarlı tespiti ve hesaplamalı analizinin iki amacı vardır; IR olaylarının tespiti ve IR seviyelerindeki duruma özgü değişikliklerin ölçülmesidir. Bu görevlerin her ikisi için de asıl zorluk, intronik ifadenin doğru değerlendirilmesidir. İlk adım, değerlendirilecek olan intronik koordinatları doğru bir şekilde tanımlamak ve örtüşen özelliklerin dahil edilip edilmeyeceğini belirlemektir (Broseus ve Ritchie, 2020; Middleton ve ark., 2017; Pimentel ve ark., 2015). Daha sonra her algoritmanın, sıralama ve hizalama yapaylıklarının üstesinden gelmek için bir strateji benimsemesi gerektiği bunların en kafa karıştırıcı olanlarının ise tekrarlanan ve düşük karmaşıklık bölgeleri, yan ekzonların düşük kapsamı ve 3' kapsama yanlılığı olduğu belirtilmiştir (Broseus ve Ritchie, 2020; Middleton ve ark., 2017; Pimentel ve ark., 2015; Vanichkina ve ark., 2018). Son olarak, IR seviyeleri iki ölçü yönteminden biri kullanılarak tahmin edilir: İçeri eklenmiş yüzde (Percent of spliced in, PSI) veya intron tutulumu oranı (Intron retention ratio, IRatio)'dur. PSI sıklıkla alternatif ekzon ekleme-kırılmasını ölçmek için kullanılır, burada alternatif eksona veya bağlantılarına hizalanan okumalar dahil etme izoformu için destek sağlarken, bitişik kurucu eksonlar arasındaki bağlantıya hizalanan okumalar, dışlama izoformunu destekler. Bu iki kümenin göreceli okuma yoğunluğu, PSI'nin standart tahminini oluşturur. Son zamanlarda bir intronik PSI, intronun tutulmasını destekleyen transkript seviyesi (milyonda transkript [Transcript per million, TPM] olarak) ve bunun hariç tutulmasını destekleyen transkript seviyesi olarak önerilmiştir (Pimentel ve ark., 2015).

$$PSI = \frac{IntronTPM}{IntronTPM + \sum TranscriptTPM}$$

PSI

$$IRatio = \frac{IntronicAbundance}{IntronicAbundance + NormalSplicedAbundance}$$

IRatio

Bu metriklerin, intronu tutan bir transkriptten gelen bilgilendirici okumaların bir kısmı olarak kırılma verimliliğini yansıtır. Bu oranların her ikisi de yüksek dalgalanmalar gösterme eğilimindedir ve davranışlarını istatistiksel olarak modellemek zordur. Sonuç olarak, dağılımları ve güven aralıklarını tahmin etmek için herhangi bir yaklaşım geliştirilmemiştir (Broseus ve ark., 2020). Fakat Lorenzi ve ark. (2021) IRFinder-S isimli bir yazılımda bu ölçümlere ek olarak evrişimli yapay sinir ağı (Convolutional neural networks, CNN) kullanarak gerçek intron tutulumu olaylarının tanımlanmasına katkı sağlayacak bir yazılım daha geliştirmiştir. IR algılama yukarıda belirtilen düzeltmeleri ve özel ölçümleri gerektirdiğinden, daha genel kırılma algılama algoritmaları yerine IR'ye özel yazılımın kullanılması tavsiye edilmektedir.

Tablo 2.1, IR'ye özel yazılımların küçük bir alt kümesini listeler ve IR seviyelerini tahmin etmek için genel yaklaşımlarını ve ölçümlerini özetler (Li ve ark., 2020; Middleton ve ark., 2017; Oghabian ve ark., 2018; Pimentel ve ark., 2015).

PSI ve IRatio, izoformlarına göre IR transkriptlerinin bolluğunu tahmin etmek için bir temsilci olarak kullanılabilir de, örnek içi ve çapraz örnek varyasyon seviyelerini anlamak için ek istatistikler gerekli olduğu bildirilmiştir. Koşullar arasında IR farklılıklarının belirlenmesi, biyolojik kopyaları birleştirmek, IR seviyesi tahminlerinin dağılımını değerlendirmek ve yanlış pozitif oranı kontrol etmek için istatistiksel bir çerçeve gerektirdiği bildirilmiştir (Grabski ve ark., 2020). En önemlisinin de, örnek okuma bolluklarının kütüphane boyutundaki (Dillies ve ark., 2013) ve gen ifadesindeki (Anders ve ark., 2012; Vanichkina ve ark., 2018) varyasyonları hesaba katmak için normalleştirilmesi gerektiği bildirilmiştir (Grabski ve ark., 2020). Tablo 2.1, bu kriterlerin çoğunu karşılayan mevcut yaklaşımları özetlemekte ve kitaplık boyutunu, gen ifadesini ve kopyalar arasındaki değişkenliği normalleştirmek için kullanılan

istatistiksel yöntemi detaylandırmaktadır. İlk üç yaklaşımın, öncelikle gen ekspresyonu veya ekzonik seviyeler için tasarlanmış mevcut yöntemlerin uyarlamaları olduğu bildirilmiştir (Anders ve ark., 2012; Love ve ark., 2014; Robinson ve ark., 2010; Robinson ve Oshlack, 2010). Fakat iDiffIR'nin (Hamilton, 2015) orijinal olarak bitki verilerinde IR için tasarlandığı ve yüksek düzeyde eksprese edilmiş genlerin ve büyük bir ekspresyon varyasyonuna sahip olanların hariç tutulduğu ve ağırlıklı bir ortalamanın hariç tutulduğu M değerlerinin (TMM) (Aanes ve ark., 2014) kırılmış ortalamasına dayandığı bildirilmiştir (Grabski ve ark., 2020).

Tablo 2.1. IR'ye özel yazılımların alt küme listesi

Metod	IR ölçümü	Kütüphane genişliği için normalizasyon	Gen ifadesi için entegre kontrol	Biyolojik varyansın modellenmesi	İstatistiksel çerçeve
edgeR-IR	İntron bin sayısı	TMM	Hayır	Evet	Genelleştirilmiş doğrusal model
DESeq2-IR	İntron bin sayısı	varyans tahmini ve yeniden ölçeklendirme	Hayır	Evet	LogFC istatistiği ve Z-testi
DEXSeq-IR	İntron bin sayısı	varyans tahmini ve yeniden ölçeklendirme	Evet	Evet	Genelleştirilmiş doğrusal model
iDiffIR	baz başına ortalama kapsama	TMM	Evet	Evet	Genelleştirilmiş doğrusal model

Not: İntron bin sayısı: kitaplık boyutundaki farklılıkları ayarlamak için, gen bazında bir normalizasyon faktörü belirlenir ve tüm ekson ve intron kutularına uygulanır. TMM, kırılmış ortalama normalleştirme, uç değerler çıkarıldıktan sonra hesaplanan bir ortalamadır (Aanes ve ark., 2014; Grabski ve ark., 2020).

IR'den türetilen protein izoformlarının doğrulanması ve transkriplerin doğrulanması ile tespitinin sağlanabileceği bildirilmiştir (Broseus ve ark., 2020). İntron tutulumunun tespitinde üç önemli adımdan birincisinin dizileme verilerinin, referans transkriptomunun hazırlanması ve kalite kontrolü; ikincisinin IR transkriptlerinin biyolojik sinyalini yansıtan metrikler üretmek, üçüncüsünün duruma özgü IR olaylarını keşfetmek için bir model kullanmak olduğu belirlenmiştir.

IRFinder (Middleton ve ark., 2017), mRNA dizileme verilerinin IR analizi için eksiksiz bir boru hattı sağladığı bildirilmiştir. IRFinder'ın, intron tutan transkriptlerin oranını yansıtan kırılma seviyesi açısından IR'yi ölçmek için IR oranını (IRRatio) kullandığı bildirilmiştir (Zheng ve ark., 2022; Wu ve ark., 2023). Gürültünün IR tahminleri üzerindeki etkisini azaltmak için IRFinder'ın, her bir intronun snoRNA'lar, mikroRNA'lar veya açıklanmamış ekzonlar gibi yüksek oranda ifade edilen özellikler tarafından kaplandığı bölgeleri hariç tuttuğu ayrıca, yüksek düzeyde DNA kontaminasyonundan muzdarip olan veya mRNA dizilemesi olarak yanlış etiketlenen örnekler gibi IR tespiti için uygun olmayan örnekleri de filtrelediği bildirilmiştir (Zheng ve ark., 2022; Wu ve ark., 2023). IRFinder'ın diferansiyel analiz modülü, birden fazla örnekteki intronların IR oranı değişimini yakalar ve önemi hesapladığı, biyolojik tekrar sayısındaki farkı göz önünde bulundurarak, IRFinder diferansiyel analiz gerçekleştirmek için farklı yollar sağladığı belirtilmiştir (Zheng ve ark., 2022; Wu ve ark., 2023). Gruplar arasındaki tekrar sayısı dörtten azsa, Audic ve Claverie Testi kullanılmalıdır; aksi takdirde, Student t-testi kullanılabildiği ayrıca diferansiyel analiz için DESeq2'yi kapsülleyen modüller de sağladığı bildirilmiştir (Zheng ve ark., 2022; Wu ve ark., 2023). IRFinder'ın giriş dosyaları için bazı özel gereksinimleri olduğu bunlara örnek olarak, transkriptom açıklama dosyası ve genomik dizi dosyası sırasıyla "transcript.gtf" ve "genome.fa" sabit adlarını gerektirdiği belirtilmiştir. Giriş BAM dosyası, okunan isme göre sıralanması gerektiği bildirilmiştir (Zheng ve ark., 2022; Wu ve ark., 2023). IRFinder'ın, IRRatio'yu intronların medyan derinliğine bağlı olan intron tutan transkriptlerden intronik okumaların oranı olarak tanımladığı bildirilmiştir. IRRatio'nun, alternatif splicing ekzonlarının gen kapsamı üzerindeki etkisini azaltabildiği, ancak uzun intronların tutma seviyesini hafife alma eğiliminde olabildiği belirtilmiştir. IRFinder için önceden tanımlanmış eşikler: $IRRatio \geq 0.1$, $kapsam \geq 0.7$, $SpliceExact \geq 5$, "clean" ve "anti-near" ile açıklanmış intron ve "-" veya "NonUniformIntronCover" işaretli intron olarak bildirilmiştir (Zheng ve ark., 2022; Wu ve ark., 2023).

Lorenzi ve ark. (2021) IRFinder'ın IRFinder-S adı verilen ve intron bolluğunun minimum kapsama alanına göre ayarlandığı yeni bir versiyonunu geliştirerek IRRatio'nun daha titiz ancak güvenilir bir tahminini sağlamıştır. Bu versiyonda IRFinder-S, evrişimli sinir ağı kullanarak (convolutional neural network, CNN) gerçek

intron tutulma olaylarının daha iyi tanımlanmasını sağlayarak, intron tutulma sonuçlarının laboratuvarlar arasında paylaşılmasına olanak tanıdığı, mevcut örnekleri keşfetmek ve karşılaştırmak için dinamik bir veritabanını entegre ettiği ve farklı intron tutulma seviyelerini tespit etmek için test edilmiş bir yöntem olarak sunulmuştur.

iREAD (Li ve ark., 2020), tutulan intronlar için okumaların intronik bölge boyunca eşit olarak dağıtıldığını varsaydığı bu nedenle, poli A enriched RNA-Seq verilerinden ekzonlarla örtüşmeyen IR olaylarını tespit etmek için entropi puanını hesapladığı bildirilmiştir (Wu ve ark., 2023). İtronun istatistiksel bilgileri esas olarak Toplam Okuma sayısını (Total Read, TR), ekzon-intron Bağlantı Okuma sayısını (Junction Read, JR), Milyon haritalanmış okuma başına transkriptin Kilobaz Başına Parça Sayısı (Fragments Per Kilobase of transcript per Million mapped reads, FPKM) değerini ve normalize edilmiş entropi puanını (Normalised Entropy, NE puanı) içerir (Wu ve ark., 2023). iREAD, IR olaylarını kesin bir şekilde tespit etmek için bir dizi yüksek eşik değeri ($TR \geq 20$, $JR \geq 1$, $FPKM \geq 3$ ve $NE \geq 0,9$) tanımlar. iREAD, girdi olarak BAM formatında bir dizi hizalama dosyasını ve BED formatında bağımsız intronların bir açıklama dosyasını kabul eder. iREAD ayrıca FPKM'yi hesaplamak için tüm genomu eşlenen okuma sayısını da girmelidir; bu, SAMtools (v1.6) (Li ve ark., 2009) aracılığıyla elde edilebilir. iREAD diferansiyel analiz işlevselliğini sağlamasa da, çıktı dosyasındaki okuma sayıları doğrudan edgeR veya DESeq2 gibi diferansiyel analiz yazılımlarının girdisi olarak kullanılabilir (Zheng ve ark., 2022; Wu ve ark., 2023).

Ekleme-kırılma karmaşıklığının entropik bir ölçüsünü kullanan Whippet, insan protein kodlayan genlerin yaklaşık %33'ünün birden fazla kırılma izoformunun önemli ölçüde ifade edilmesiyle sonuçlanan karmaşık AS olayları içerdiğini ortaya koymaktadır (Sterne-Weiler ve ark., 2018). Bu olaylar sıklıkla katlanmış protein alanlarının tandem dizilerini etkiler. Dikkat çekici bir şekilde, yüksek entropili AS olayları, eşleşen normal dokulara göre tümörde daha yaygındır ve bu farklılıklar proto-onkogenik kırılma faktörlerinin artan ekspresyonu ile ilişkilidir (Sterne-Weiler ve ark., 2018). Whippet böylece herhangi bir karmaşıklıkta AS olaylarının hızlı ve doğru bir şekilde analiz edilmesini sağlar ve bu nedenle biyomedikal araştırmaları kolaylaştıracığı bildirilmiştir (Sterne-Weiler ve ark., 2018).

iREAD ve IRFinder gibi mevcut IR tespit yöntemleri, yalnızca intronik okumaların yerel veya özetlenmiş özelliklerini tanımlayan önceden tanımlanmış bir veya birkaç metriğe dayanmaktadır. IR'ler bu metriklerin önceden tanımlanmış eşik değerlerine göre tespit edilir. IR keşfinin doğrulanması için Northern blot analizi, RNA görselleştirme ve kantifikasyonu için orijinal yöntemlerden biri olduğu ve mRNA-seq deneyleri yoluyla keşfedilen IR transkriptlerini doğrulamak için standart bir teknik olarak kaldığı bildirilmiştir (Alwine ve ark., 1977; Fields ve ark., 2019; Hammarskjöld ve ark., 2006). Gerçek zamanlı ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonunun (qRT-PCR), spesifik IR transkriptlerinin hem doğrulanması hem de nicelenmesi için başka bir standart teknik olduğu bildirilmiştir (Ponchel ve ark., 2003; Rajeevan ve ark., 2001). RT-PCR'nin sayısız varyasyonu olmasına rağmen, floresan bazlı gerçek zamanlı RT-PCR'ın, düşük bolluklu RNA dahil olmak üzere RNA'yı ölçmek için basit ve etkili bir yol olarak ortaya çıktığı belirtilmiştir (Deepak ve ark., 2007; Schmittgen ve ark., 2000). qRT-PCR'de IR doğrulanması ve kantifikasyonu için temel ilkenin, yine intronda veya intron-ekson bağlantılarında hizalanan diziye özgü primerleri kullanmak olduğu bildirilmiştir. IR'nin göreceli bolluğunun, hem IR hem de tamamen eklenmiş mRNA'lar için ortak olan bölgelerde primer çiftleri kullanılarak değerlendirilebileceği bildirilmiştir (Grabski ve ark., 2021).

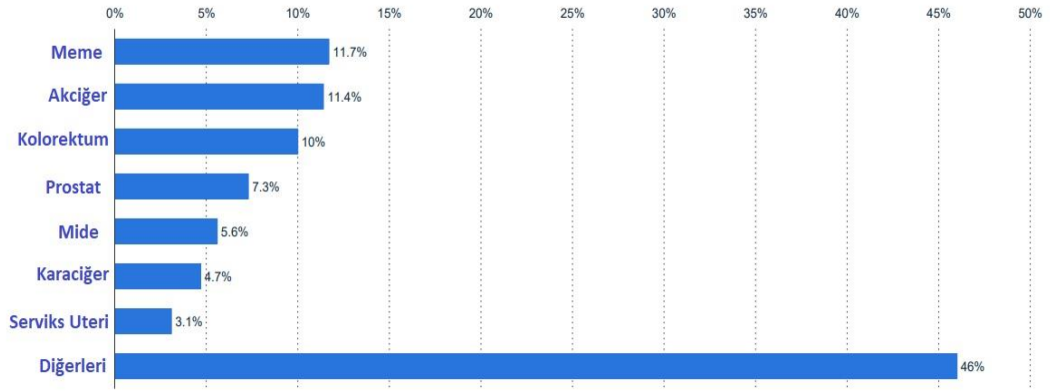
Alternatif kırılmanın yanlış düzenlenmesi kanserlerle ilişkilidir ve kırılma faktörlerindeki anormal ekspresyon veya mutasyonların tümör oluşumuna katkıda bulunduğu bilinmektedir (Anczuków ve Krainer, 2016). Kanserlerde IR, normal bitişik kontrol dokusundan daha yüksek olma eğilimindedir (Dvinge ve Bradley, 2015) ve genellikle tümör baskılayıcı mekanizmanın ekspresyonunu aşağı regüle eden bir mekanizmadır (Jung ve ark., 2015). Dvinge ve Bradley (2015), Kanser Genom Atlas (The Cancer Genome Atlas, TCGA) verilerini kullanarak, IR'nin 16 kanser tipinin transkriptomlarına katkısını araştırmıştır. Normal meme dokusu durumunda, IR, lümen hücreleri ile miyoepitelyal hücreler olarak IR olaylarının sayısının yedi katından fazlasını ifade eden luminal ve miyoepitelyal hücreler arasında belirgin imzalar taşıdığı bildirilmiştir (Gascard ve ark., 2015). Yabanıl tipte veya sağlıklı kontrolde intron tutulmasının SF3B1 mutant hücrelere göre daha yüksek olduğu miyelodisplaziyi içerdiği bildirilmiştir (Dolatshad ve ark., 2016). MYC ile transforme edilmiş hücrelerde kırılmanın kısmi inhibisyonunun, MYC transformasyonuna yanıt olarak IR'de küresel

artışlara yol açtığı bildirilmiştir (Hsu ve ark., 2015). Buna karşılık, IR'nin hakim olduğu birçok farklılaşmış hücrede, çekirdek birleştirme faktörlerinin seviyelerinin, daha az farklılaşmış benzerlerine göre daha düşük olduğu belirtilmiştir (Gascard ve ark., 2015; Llorian ve ark., 2016; Pimentel ve ark., 2016; Wong ve ark., 2013). Bu nedenle, düzenlenmiş IR olaylarının genel olarak, ya hareketsiz farklılaşmış hücrelerde bileşenlerin düşük seviyelerinden veya yüksek oranda transkripsiyonel olarak aktive edilmiş dönüştürülmüş hücrelerdeki rekabetten kaynaklanan sınırlı splaysozom kullanılabilirliğine karşı özellikle savunmasız olabileceği bildirilmiştir (Jacob ve ark., 2017)

Yapılan bir araştırmada, 1812 kanser hastası örneğinin analizi, kırpılma ile ilişkili tek nükleotid varyantlarının %18'den fazlasının IR'ye neden olduğunu (Boutz ve ark., 2015) ve bu olayların çoğunun tümör baskılayıcı genleri etkilediğini göstermiştir (Boutz ve ark., 2015; Casadei ve ark., 2019; Dvinge ve Bradley, 2015). Özellikle, IR'nin kanserlerde tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonunun yaygın bir nedeni olarak tanımlandığı bildirilmiştir (Jung ve ark., 2015). Değiştirilmiş kırpılmanın nükleer taşıma faktörü NXF1 ve FOSB'da meme kanseri ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Marquez ve ark., 2015). Tüm genomik gen dizisini hedefleyen yeni nesil dizilemenin (Next generation sequencing, NGS) artan kullanımı, derin intronik SV'nin genetik hastalıklardaki önemi ve mRNA'ya psödo-eksonların dahil edilmesi konusunda farkındalığı artırdı. Son olarak, kanserde alternatif kırpılmayı analiz etmek için sıralama ve hesaplama teknolojilerindeki son gelişmelerden yararlanılmaktadır. Cis ve trans düzenleyici elemanlardaki ek yeri mutasyonlarının oranını tanımlamak için Kanserde Somatik Mutasyonlar Kataloğu'nu (Catalogue of somatic mutations in cancer, COSMIC) araştırılmaktadır. Normal ve somatik genetik varyasyonların depolarına ek olarak, farklı kanser türlerinden oluşan geniş kohortlardan elde edilen genomik veriler giderek daha fazla elde edilebilmektedir. Bunların, tümörlerde birleştirilmiş nicel özellik lokuslarını haritalayarak alternatif birleştirmenin genetik kontrolünü anlamak için yeni anlayışlar getirmesi muhtemel olduğu bildirilmiştir (Dufner ve ark., 2019).

Dünya da ve Türkiye'de farklı yıllara ilişkin en çok görülen kanser türlerine ait insidans ve prevalans verileri Şekil 2.5 ve Şekil 2.6'da bildirilmiştir.

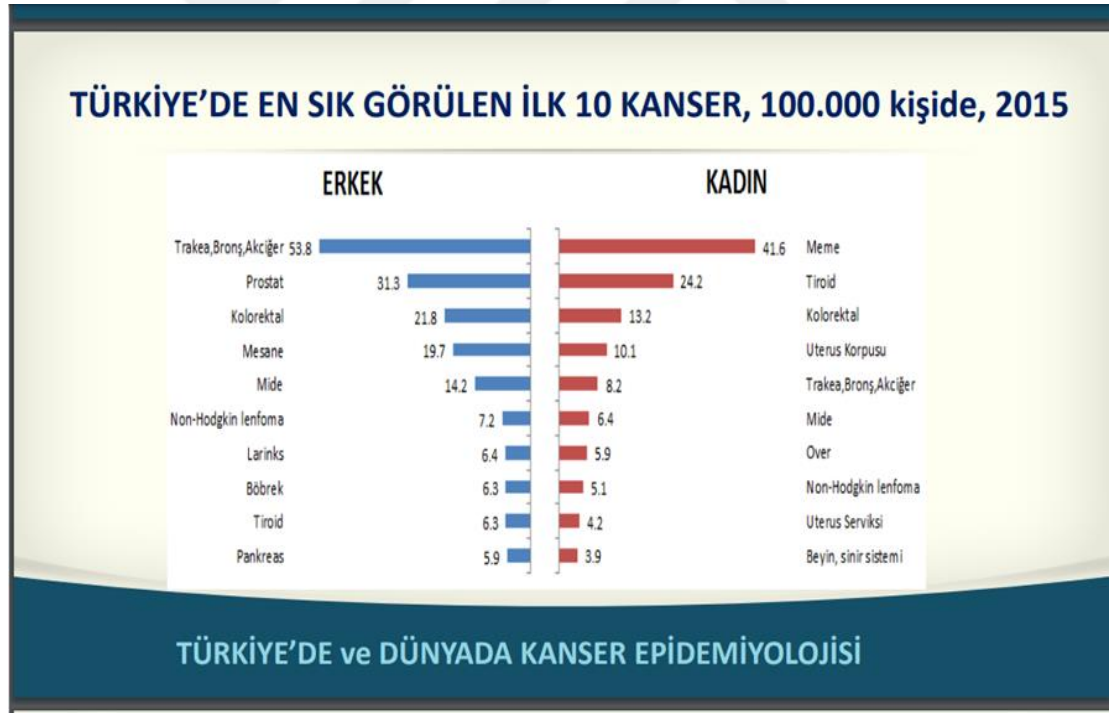
Dünya'da 2020 yılı içerisinde belirlenen yeni kanser vakalarının yüzdesi



Note(s): Worldwide; 2020
Further information regarding this statistic can be found on [page 53](#)
Source(s): WHO; International Agency for Research on Cancer; [ID 288551](#)

Incidence **statista**

Şekil 2.5. Dünya’da 2020 yılında belirlenen yeni kanser vakalarının kanser tiplerine göre yüzdeleri (Statista, 2024)



Şekil 2.6. Türkiye’de 2015 yılında en sık görülen 10 kanser türü. (Gültekin ve ark., 2014)

Planlanan bu çalışmada Türkiye’de ve dünyada sıklıkla gözlenen Meme, Akciğer, Kolorektum, Prostat, Mide, Serviks uteri gibi kanser türlerine ait tümör dokularında

yapılmış ve açık erişimli veri tabanlarına yüklenmiş RNA-seq verileri elde edilerek, IRFinder, IRFinder-S, İREAD ve Whippet gibi algoritmalarında intron tutulumu açısından analizi ve algoritmalar arası elde edilen sonuçların karşılaştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca elde edilen sonuçlara göre ışakış (nextflow) yönergelerinin oluşturulması amaçlanmıştır.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Biyoinformatik analizler için alt yapı

Bu çalışmada kullanılan hesaplamalar Tıp Biyoistatistik laboratuvarına ait sunucu desteğiyle sağlanmıştır. Kullanılan bilgisayarların donanım bilgileri aşağıdaki gibidir:

İşletim Sistemi: Ubuntu 20.04.3 LTS

İşlemci: AMD Epyc 7742 32 çekirdek.

Hafıza Miktarı (RAM): 512GB.

Yerel Disk Boyutu: 4TB.

Harici Disk Boyutları: 20 TB ve 10 TB

3.2. verilerin belirlenmesi ve harici disklere indirilmesi

İntron tutulumu açısından, analizi yapılacak örnekler Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezinden (National Center of Biotechnology Information, NCBI) indirilmiştir. Eşleştirilmiş (Paired-end), Poly-A kuyruklu kısa okuma verilerinin tanımlanması 6 Mart 2023'de Dizi Okuma Arşivi'nde (Sequence Read Archive, SRA, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra>) bir gelişmiş arama sorgusu gerçekleştirilerek ve tüm bioproje erişim numaraları, ortaya çıkan RunInfo CSV dosyalarının harici disklere indirilmesiyle sorgu sonuçlarından toplanmıştır. Arama sorgulamasında kanser türleri belirtilerek özellikle doku örneği (hücre kültürü örnekleri elendi) içeren projelerin incelendiği aramalar gerçekleştirilmiştir. Organizma "insan", kaynak "RNA", strateji "rna-seq" aramada platformlarla erişim "genel"i içermektedir. Kısa okuma sorgusu için "illumina" and "paired-end" seçilmiştir. RunInfo dosyaları birleştirilmiş olup aynı NCBI tümör biyoörneği üzerinde Illumina'da yapılan paired-end projeleri

belirlenmiştir. Özellikle kanser türleri ile ilişkili doku transkriptom verilerinden, paired-end, Poly-A fastq formatında olanlar seçilmiştir (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi'nden (National Center of Biotechnology Information, NCBI) analiz için uygun olduğu belirlenen kanser türlerine ait paired-end sekans verilerine ait bilgiler.

Kanser Türü	Bildirilen Tipi	Alt Kontrol (n)	Hasta (n)	NCBI'da belirlenen analize uygun veri sayısı toplam (paired-end)	NCBI PROJE NO	Referans
Meme Kanseri	Üçlü Meme Tumor Kontrol Dokuları	Negatif ve 26	41	67	PRJNA251383	Varley ve ark. (2014)
Servikal Kanseri	Servikal Kanseri Hastasından Alınan Tumor Kontrol Dokuları	Primer ve 6	6	12	PRJNA793244	
Kolorektal Kanseri	Kolorektal Kanseri Hastasından Alınan Tumor ve Kontrol Dokuları	72	72	144	PRJNA658001	Li ve ark. (2021); Lin ve ark. (2023)
Mide kanseri	Mide Kanseri Hastasından Alınan Tumor ve Kontrol Dokuları	80	80	160	PRJNA508414	Mun ve ark. (2019)
Akciğer Kanseri	Akciğer Kanseri Hastasından Alınan Tumor ve Kontrol Dokuları	Primer ve 32	30	62	PRJNA719412	Zhang ve ark. (2021)
Prostat kanseri	Prostat Kanseri Hastasından Alınan Tumor ve Kontrol Dokuları	30 (iki tekrar)	30 (iki tekrar)	60	PRJNA552058	Kumar ve ark. (2021)
Toplam		246	259	505		

3.3.Ham ve işlenmiş verilerin kalite kontrolü, istatistiki analizi ve ön filtreden geçirilmesi

Analizlerin yapılması planlanan programların her biri için ayrı “conda environment” oluşturulmuştur. Fastq formatında bulunan ham veriler harici disklere indirilmiştir. İndirilen veriler kalite kontrolü ve trimleme için Trimgalore v0.6.10 (Krueger ve ark., 2021) algoritması ile analiz edilmiştir. Kalite kontrolünde Fastqc (Wingett ve ark., 2018), Multiqc (Ewels ve ark., 2016) işlemleri hem ham verilere hem de trimlenmiş verilere uygulanmıştır. Phred skoru 30’nin altında olan bazlar bir okumanın %40’ından fazlasını kapsadığı durumda o okuma analiz dışı bırakılmıştır. Ayrıca hem ham hemde trimlenmiş okumalara ait istatistiki veriler (okuma sayısı, baz sayısı, %GC içeriği) Seqkit v2.3.0 (Shen ve ark., 2016) algoritması ile elde edilmiştir. Tüm algoritmaların kullanacağı genel ön işleme işlemlerinin ardından tüm kanser gruplarına ait sekansların multiqc verileri elde edilmiştir.

3.4. Kısa RNA-seq okumalarının insan genomuna hizalanması ve STAR indeks referansının oluşturulması

Trimlenme işlemi yapılan fastq dosyaları STAR 2.7.10b versiyonlu (Dobin ve ark., 2013) aligner algoritmaları ile GRCh38.109.gtf.gz ve GRCh38.dna.primary_assembly.fa.gz ana referans dosyaları indirilerek intron tutulumuna ilişkin bir referans indeksi oluşturulmuştur. Elde edilen indeks referansına göre tüm veriler align edilerek *Aligned.out.bam, *Log.final.out, *Log.progress.out, *Log.out, *Log.std.out, *SJ.out.tab çıktıları elde edilmiştir.

3.5. İntron tutulumu algoritmaları ile verilerin analizi ve iş akış şemalarının oluşturulması

Tüm algoritmaların çalıştırılacağı conda environment’lar aktifleştirilmiştir. Elde edilen bam’ler IRFinder 1.3.1, IRFinder-S 2.0.1, iREAD-0.8.9, Whippet v1.5.1 (Julia v1.5.3) algoritmalarında analiz edilmesi ve elde edilen verilerin kendi içlerinde ve kendi aralarında karşılaştırılması sağlanmıştır. Tüm algoritmalara ait iş akış kodları oluşturulmuştur. Algoritmaların çözümlenmesinde unix-bash, C++, python, Julia ve R programlama dilleri kullanılmıştır. Farklılaşmış gen ekspresyonları için IRFinder ve IRFinder-S algoritmalarına entegre edilmiş DEseq2, iREAD algoritmasında ise ayrıca R programı üzerinde edgeR paketi kullanılmıştır. İntron tutulumunun belirlenmesinde

kullanılacak algoritmalara ait github adreslerinde bulunan yönergelere göre algoritmalar linux ortamında kurulmuştur. İlgili algoritmalara ait web adresleri aşağıda bildirilmiştir.

IRFinder algoritmasına; (<https://github.com/williamritchie/IRFinder>)

IRFinder-S algoritmasına [GitHub - RitchieLabIGH/IRFinder](#)

iREAD algoritmasına; [GitHub - genemine/iREAD: iREAD \(Li ve ark., 2020\)](#)

Whippet algoritmasına [GitHub - timbitz/Whippet.jl: Lightweight and Fast; RNA-seq quantification at the event-level](#)

3.6. Algoritmalarından elde edilen sonuçların eşik (cutoff) değerlerinin belirlenmesi

Tutulmuş intronların belirtildiği sonuçlarda IRFinder, IRFinder-S $\text{LogFC} > 1.5$, $\text{Adjusted-P} < 0.01$ değerine göre (Love ve ark., 2014), iREAD algoritmasında $\text{LogFC} > 1.5$, $P < 0.01$ ve FDR değerine, Whippet algoritmasında ise $\text{Delta PSI} > 0.10$ (<https://github.com/timbitz/Whippet.jl>) üzerinde kalan genler incelenmiştir. Belirlenen genler yukarı yönlü intron tutulumu gerçekleşen genler ve aşağı yönlü intron tutulumu gerçekleşen genler olarak gruplandırılmıştır.

3.7. Venny, İntervene kesişim ve ShinyGo, gProfiler Yolak Analizleri

Gruplandırma sonrası tüm algoritmalarda kromozom sayısı: başlangıç ve bitiş bölgesine göre intron tutulumu belirlenen genler Venny 2.1.0 (Oliveros, 2007-2015) Venn Diyagramına ve Intervene (Khan ve Mathelier, 2017) shiny web uygulamasına yerleştirilmiştir. Venn diyagramında tüm algoritmaların kesişim kümesinde bulunan genler ShinyGO 0.80 (Ge ve Yao, 2020) yolak analizlerine tabi tutulmuştur. Ayrıca kesişim kümesinde bulunan genler gProfiler (Kolberg et al., 2023) g:GOST fonksiyonel profillemeye web aracında incelenmiştir.

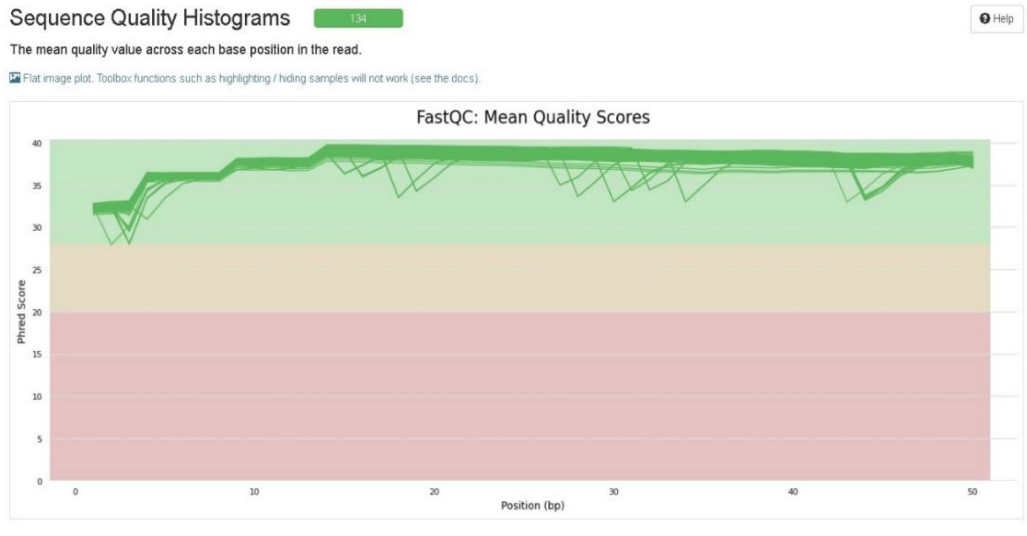
3.8. Cohen Kappa Analizleri

Algoritmalarından elde edilen kesişim bölgeleri algoritmaların uyumunun belirlenmesi için excel formatında matrisler oluşturularak R-4.4.1 versiyonunda “kappa2” paketi ile analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlardan ısı haritaları yine R üzerinde oluşturulmuştur.

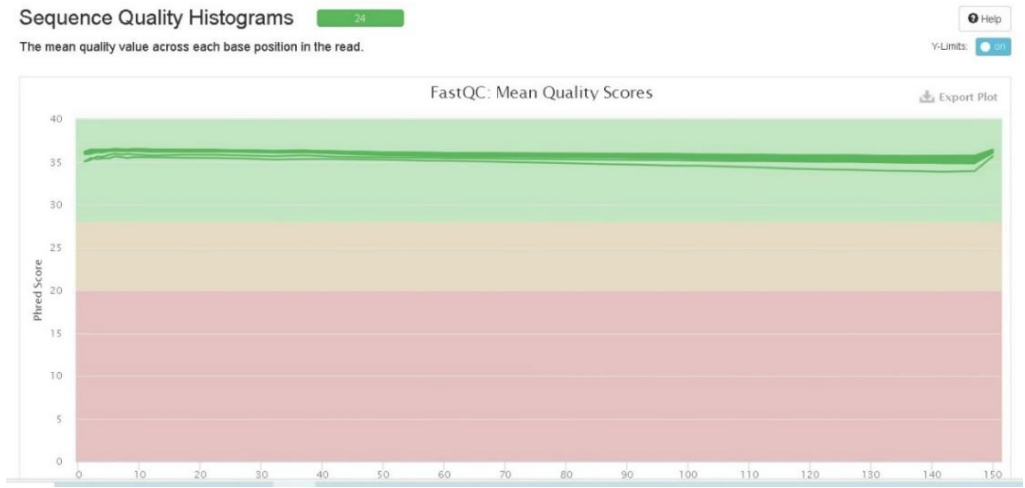
4.BULGULAR

4.1.Verilerin kalite kontrol sonuçları ve algoritmalara ait özellikler

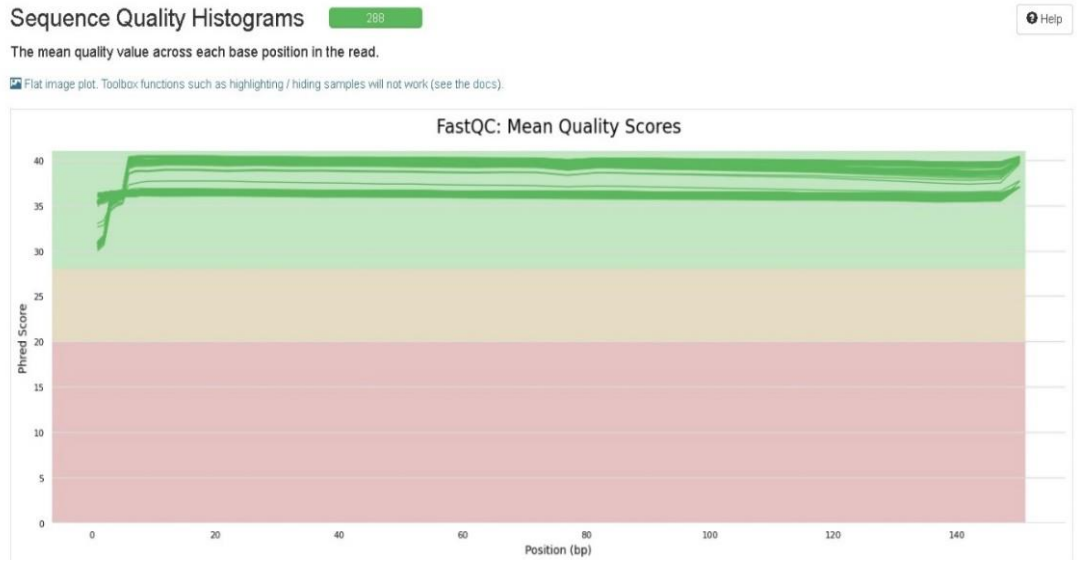
Çalışma kapsamında incelenen 6 kanser türüne ait toplam 505 fastq verisine ait trimlenmiş verilere ait multiqc analiz sonuçları Şekil 4.1 - Şekil 4.6 arasında bildirildiği gibi elde edilmiştir. Kullanılan örneklere ilişkin bilgiler <https://github.com> adresinde bildirilmiştir.



Şekil 4.1. Meme kanseri verilerine ait kırılma sonrası fastqc grafiği



Şekil 4.2. Servikal kanser verilerine ait kırılma sonrası fastqc grafiği



Şekil 4.3. Kolorektal kanser verilerine ait kırılma sonrası fastqc grafiği

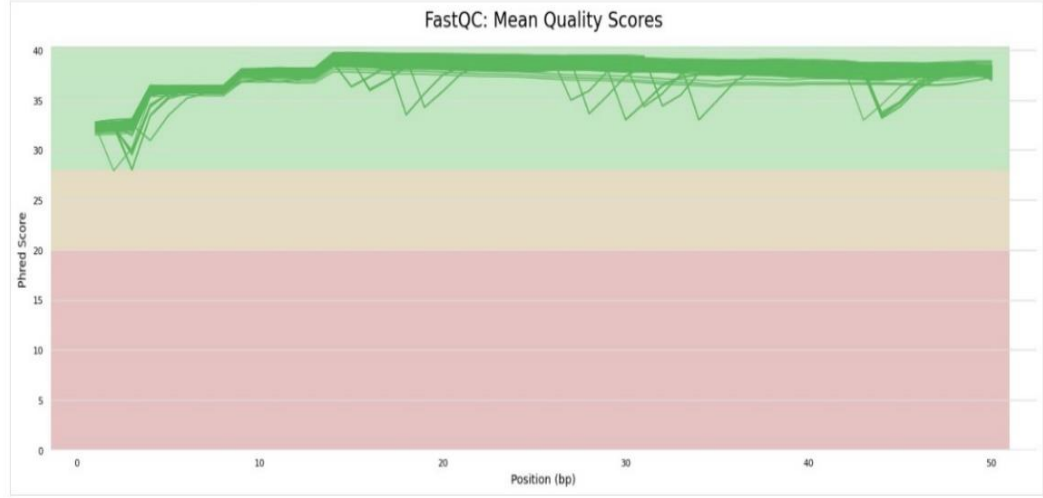
Sequence Quality Histograms

134

Help

The mean quality value across each base position in the read.

Flat image plot. Toolbox functions such as highlighting / hiding samples will not work (see the docs).



Şekil 4.4. Mide kanseri verilerine ait kırılma sonrası fastqc grafiği

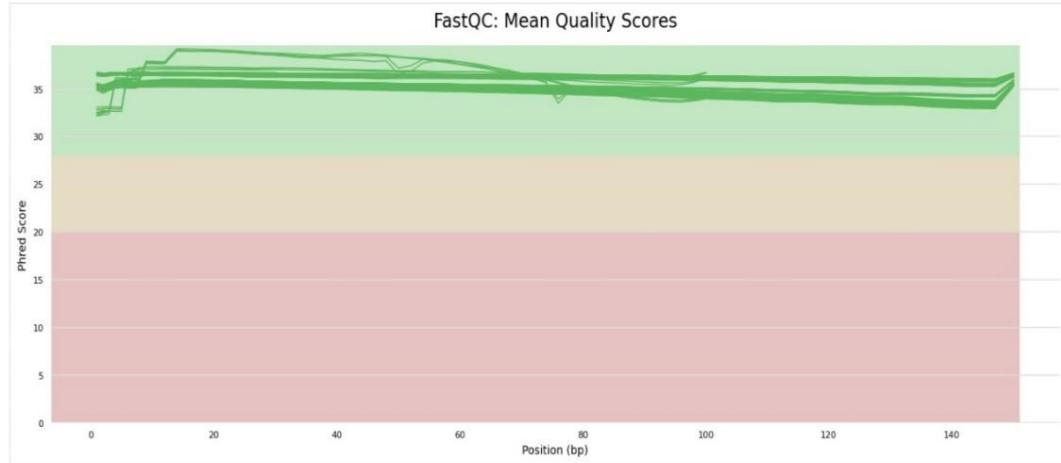
Sequence Quality Histograms

124

Help

The mean quality value across each base position in the read.

Flat image plot. Toolbox functions such as highlighting / hiding samples will not work (see the docs).



Şekil 4.5. Akciğer kanser verilerine ait kırılma sonrası fastqc grafiği

Sequence Quality Histograms

118

Help

The mean quality value across each base position in the read.

Flat image plot. Toolbox functions such as highlighting / hiding samples will not work (see the docs).



Şekil 4.6. Prostate kanser verilerine ait kırılma sonrası fastqc grafiği

Ham ve kırılmış okuma verilere ait istatistiksel sonuçlar Tablo 4.1’da bildirilmiştir.

Tablo 4.1 Ham ve kırılmış okuma verilerine ait istatistiksel sonuçlar.

Kanser Verileri	Türü	Okuma	Ortalama (milyon)	dizi sayısı	Toplam (milyar)	dizi uzunluğu	Min uzunluk	Ortalama uzunluk	Maks uzunluk	Q30(%)	GC(%)
Meme Ham (n:67)			79.4		3.9		50	50	50	88.75	48.70
Meme Kırılmış			65.8		3.2		19.70	48.74	50	96.32	48.94
Servikal Ham (n:12)			3.5		532 milyon		151	151	151	90.57	50.40
Servikal Kırılmış			3.5		389 milyon		20	111.69	151	93.27	48.59
Kolorektal Ham (n:144)			19.6		2.9		150	150	150	92.09	53.39
Kolorektal Kırılmış			18.7		2.4		19.65	130.91	150	96.01	53.27
Mide Ham (n:160)			71.2		7.1		100.23	100.95	100.96	89.76	50.09
Mide Kırılmış			67.4		6.4		20	96.08	100.96	95.24	49.85
Akciğer Ham (n:62)			82.6		12.2		147.77	147.77	147.77	89.59	48.50
Akciğer Kırılmış			80.7		10.9		20	136.79	147.77	91.44	48.22
Prostat Ham (n:60)			44.4		6.6		148.5	148.5	148.5	86.13	48.45
Prostat Kırılmış			42.4		5.7		20	135.34	148.5	92.67	48.16

Çalışılan tüm algoritmalarından elde edilen intron tutulumuna ilişkin sonuçlar her bir kanser türüne ait isimlendirme ile excel dosyasında <https://github.com> adresinde bildirilmiştir.

Tez projesinde incelenmesi hedeflenen KMA, İntEREst, JUM, MAJIQ-spel, IRFinder, IRFinder-S İREAD ve Whippet algoritmalarından hepsi incelenerek algoritmalarının güncel olması literatürde en çok kullanılanlardan olması sebebiyle IRFinder, IRFinder-S, İREAD ve Whippet algoritmaları çalışılmak üzere seçilmiş ve çözümlenmiştir. Her bir algoritmaya özgü iş akışına ait script dosyaları ve yönergeler hazırlanmıştır. Çözümlenen dört algoritmaya ait iş akış şemaları ve kodları <https://github.com> adresinde belirtilmiştir.

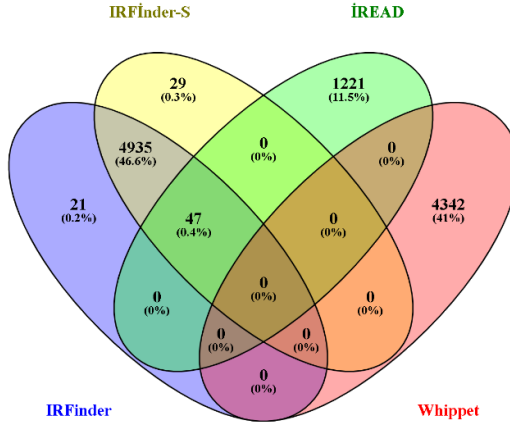
Tablo 4.2. Algoritmalarla ait özellikler.

Tool	IRFinder	IRFinder-S	İREAD	Whippet
Year	2017	2021	2020	2018
RI-spesifik mi?	evet	evet	evet	Hayır, tüm AS
RI	IRratio	IRratio	FPKM, Entropi	TPM, Delta
Dil	C++	C++	Skoru	PSİ
websitesi	GitHub	GitHub	Python, R	Julia
Örnek	Veri BAM veya	BAM veya	GitHub	GitHub
Formatı	Fastq	Fastq	BAM	Fastq
Referans format	GTF	GTF	BED	GTF
Intron tanımlaması	Tüm intronlar	Tüm intronlar	Bağımsız intronlar	Tüm intronlar

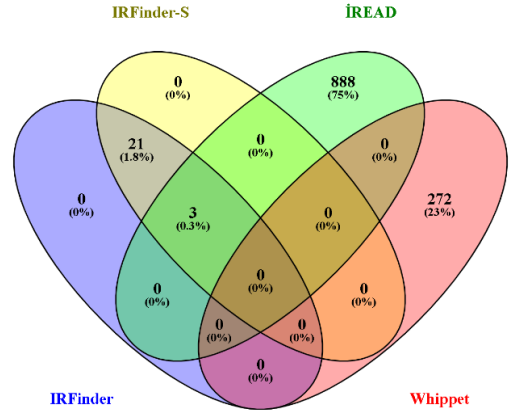
4.2.Venn Diyagramı ve Intervene Sonuçları

Algoritmalarda tumor dokularında kontrol grubuna göre yukarı ve aşağı yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin kanser türlerine göre Venn diyagramı ve Intervene gen bölgeleri kesişim sonuçları Şekil 4.7 ve Şekil 4.24 arasında bildirilmiştir.

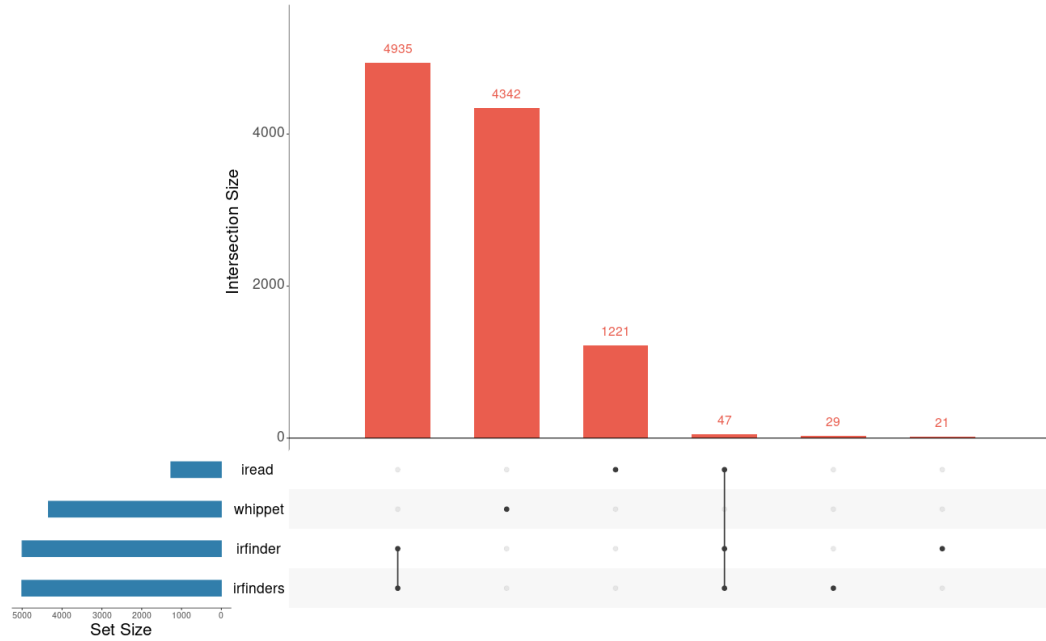
(a)



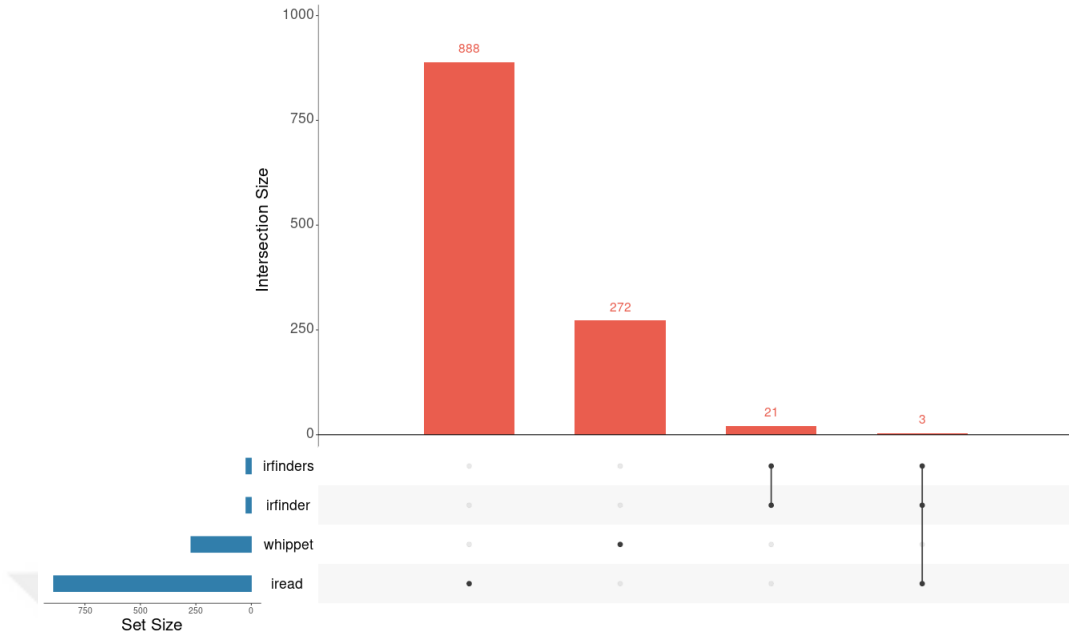
(b)



Şekil 4.7. Meme kanseri verilerinin kontrol grubuna göre yukarı (a) ve aşağı (b) yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına göre venn dağılımı



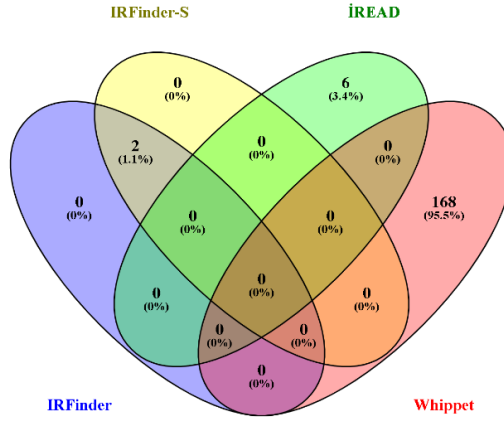
Şekil 4.8. Meme kanseri verilerinin kontrol grubuna göre yukarı yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına Intervene Upset Plot grafiği



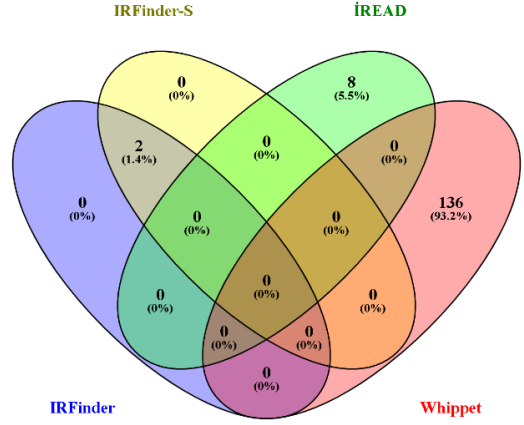
Şekil 4.9. Meme kanseri verilerinin kontrol grubuna göre aşağı yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına Intervene Upset Plot grafiği

Meme kanseri yukarı yönlü intron tutulumu kromozom sayısı: başlangıç ve bitiş sayısı gen bölgelerine göre venn diyagramında IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının kesişim kümesinde 47 gen bölgesi ortak olarak tespit edilmiştir. Bu da toplam bulunan gen bölgelerinin %0.4'ünü oluşturmaktadır. Aşağı yönlü intron tutulumunda ise yine aynı algoritmalarla ilişkin ortak 3 gen bölgesi tespit edilmiştir (Şekil 4.7). Toplam bulunan gen bölgesinin %0.3'ünü temsil etmektedir. Intervene algoritmasında Şekil 4.8 ve Şekil 4.9'da elde edilen grafiklerde bar grafiği olarak venn diyagramları ile benzer sonuçları içermektedir.

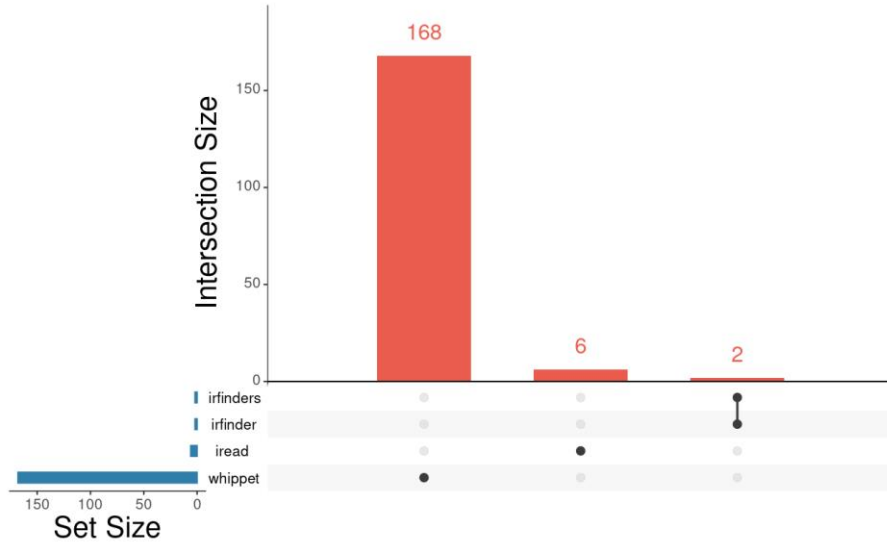
(a)



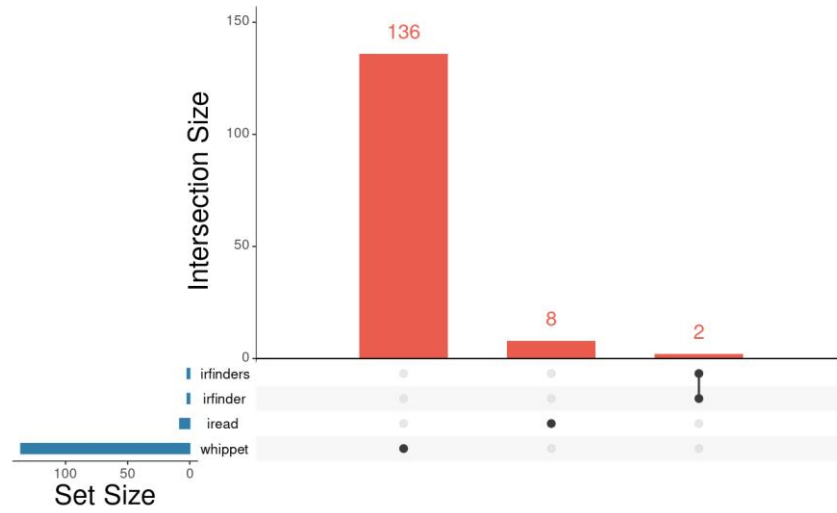
(b)



Şekil 4.10. Servikal kanser verilerinin kontrol grubuna göre yukarı (a) ve aşağı (b) yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına göre venn dağılımı

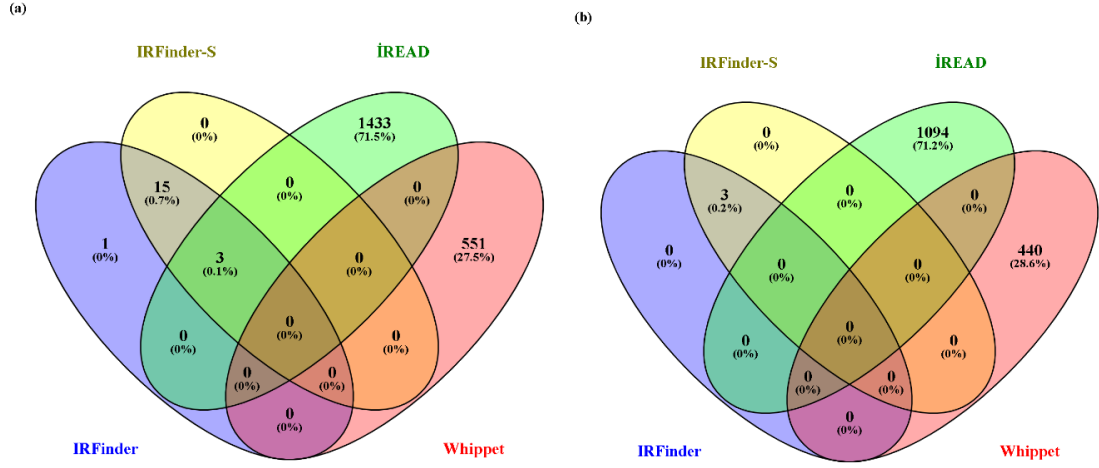


Şekil 4.11. Servikal kanser verilerinin kontrol grubuna göre yukarı yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına Intervene Upset Plot grafiği

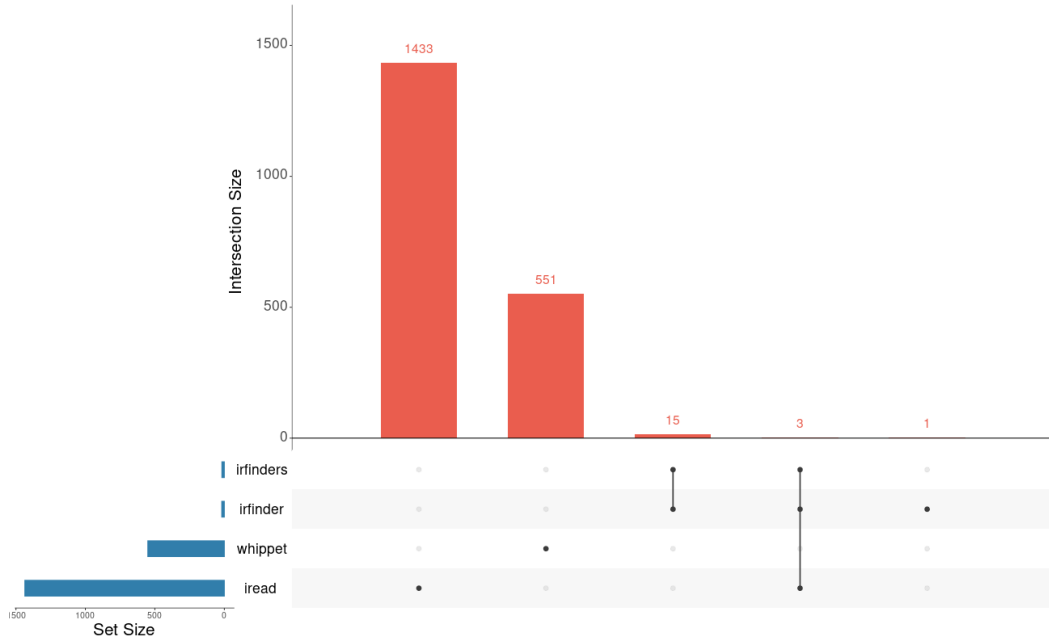


Şekil 4.12. Servikal kanseri verilerinin kontrol grubuna göre aşağı yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına Intervene Upset Plot grafiği

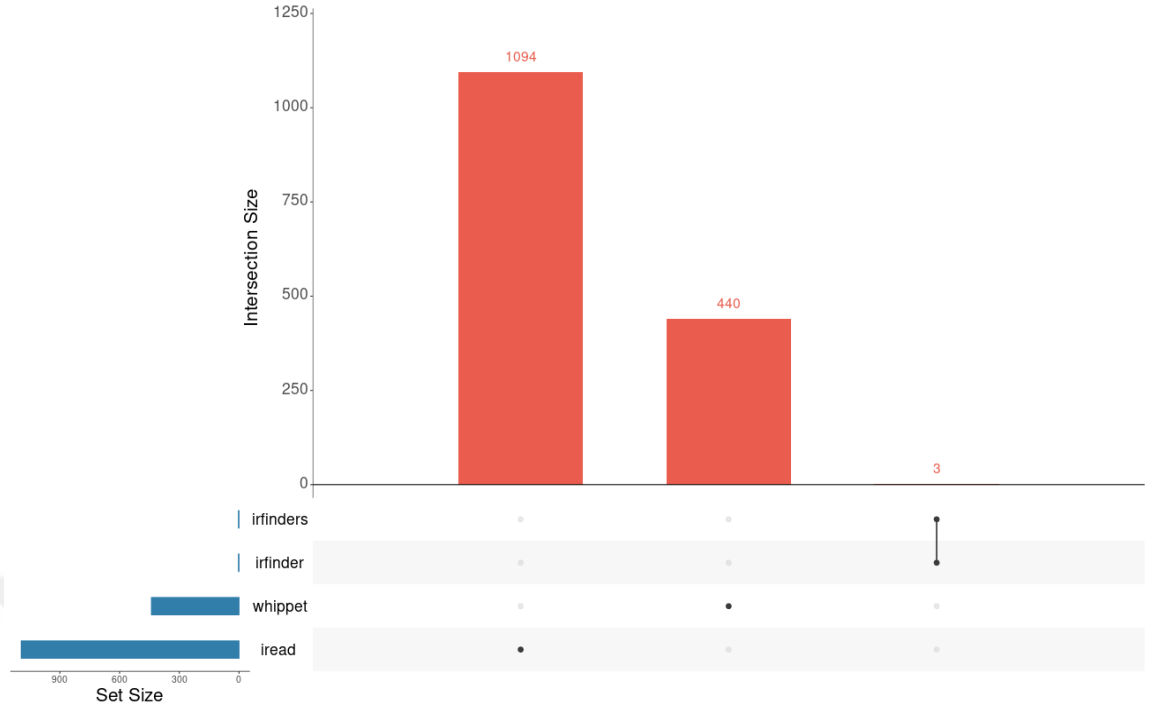
Servikal kanseri yukarı ve aşağı yönlü intron tutulumu venn diyagramına göre IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının kesişim kümesinde ortak gen bölgesi tespit edilememiştir. Yukarı yönlü intron tutulumunda 2 (%1.4) gen bölgesi IRFinder ve IRFinder-S algoritmalarında belirlenmiştir (Şekil 4.10). Intervene algoritmasında Şekil 4.11 ve Şekil 4.12’de elde edilen grafiklerde bar grafiği olarak venn diyagramları ile benzer sonuçları içermektedir.



Şekil 4.13. Kolorektal kanseri verilerinin kontrol grubuna göre yukarı (a) ve aşağı (b) yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına göre dağılımı

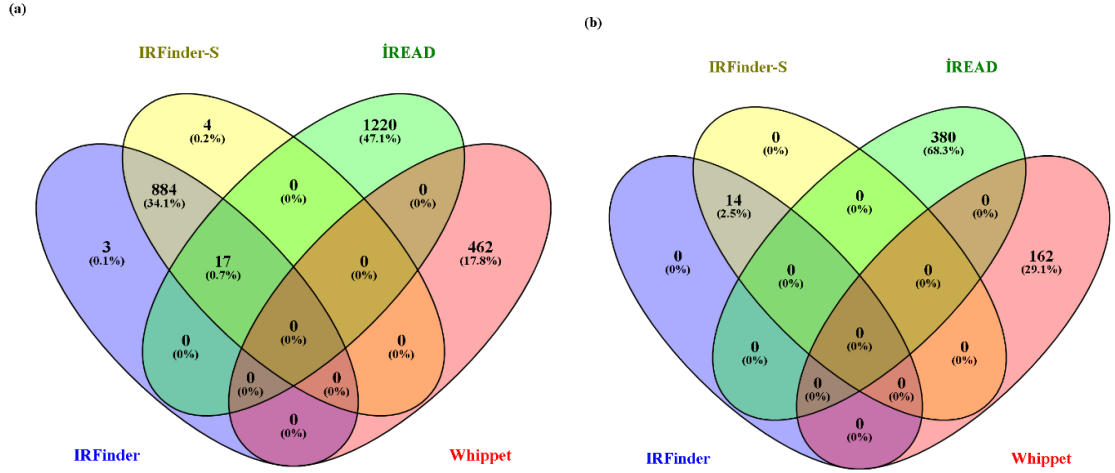


Şekil 4.14. Kolorektal kanseri verilerinin kontrol grubuna göre yukarı yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına Intervene Upset Plot grafiği

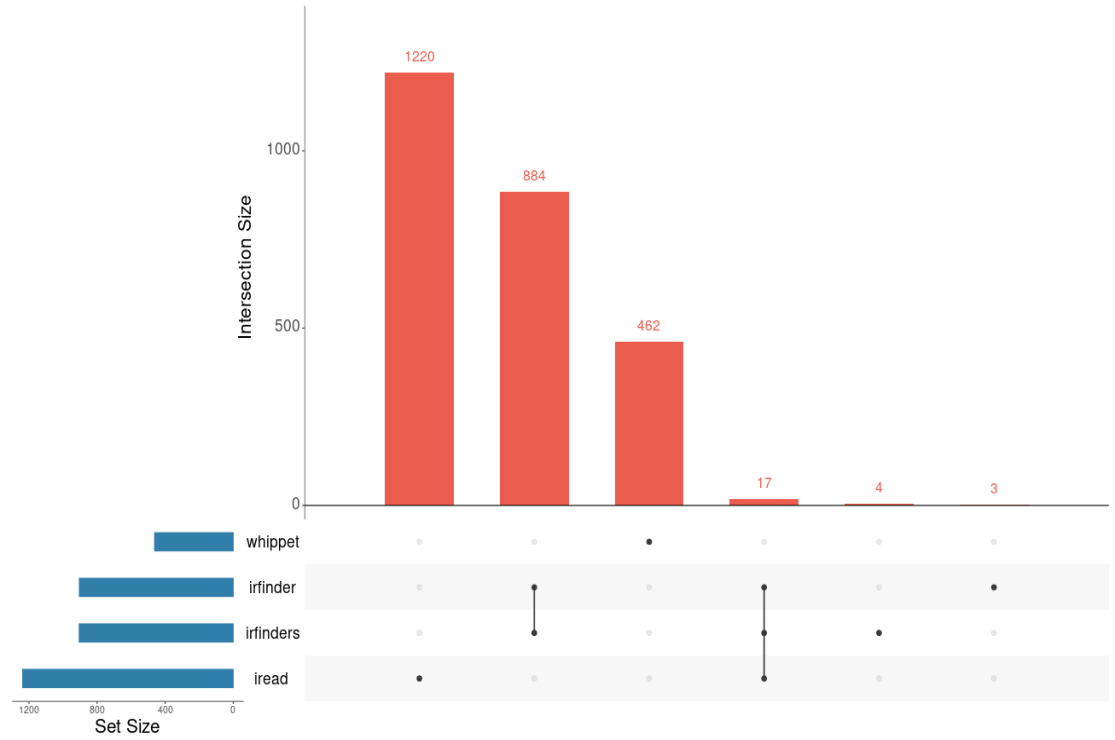


Şekil 4.15. Kolorektal kanseri verilerinin kontrol grubuna göre aşağı yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına Intervene Upset Plot grafiği

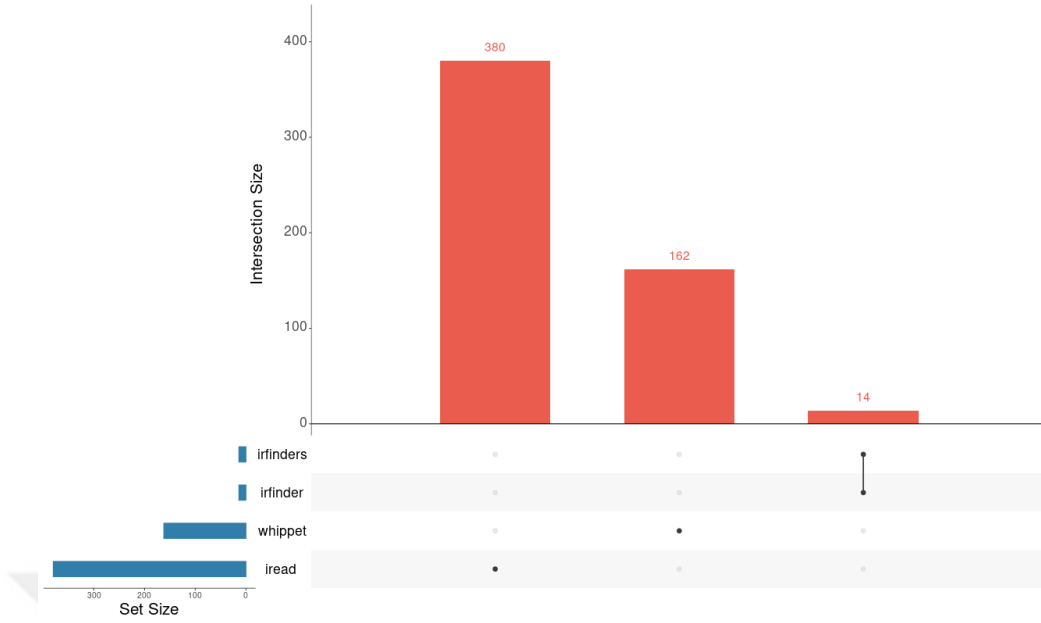
Kolorektal kanseri yukarı yönlü intron tutulumu venn diyagramına göre IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının kesişim kümesinde 3 gen bölgesi ortak olarak tespit edilmiştir. Bu da toplam bulunan gen bölgelerinin %0.1'ini oluşturmaktadır. Aşağı yönlü intron tutulumunda ise ortak gen bölgesi tespit edilememiştir (Şekil 4.13). Intervene algoritmasında Şekil 4.14 ve Şekil 4.15'de elde edilen grafiklerde bar grafiği olarak venn diyagramları ile benzer sonuçları içermektedir.



Şekil 4.16. Mide kanseri verilerinin kontrol grubuna göre yukarı (a) ve aşağı (b) yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına göre venn dağılımı

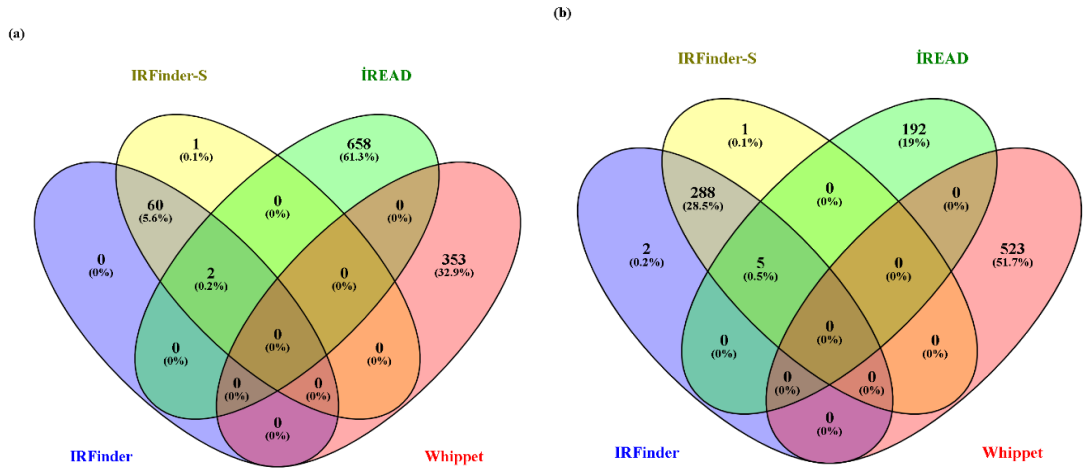


Şekil 4.17. Mide kanseri verilerinin kontrol grubuna göre yukarı yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına İntervene Upset Plot grafiği

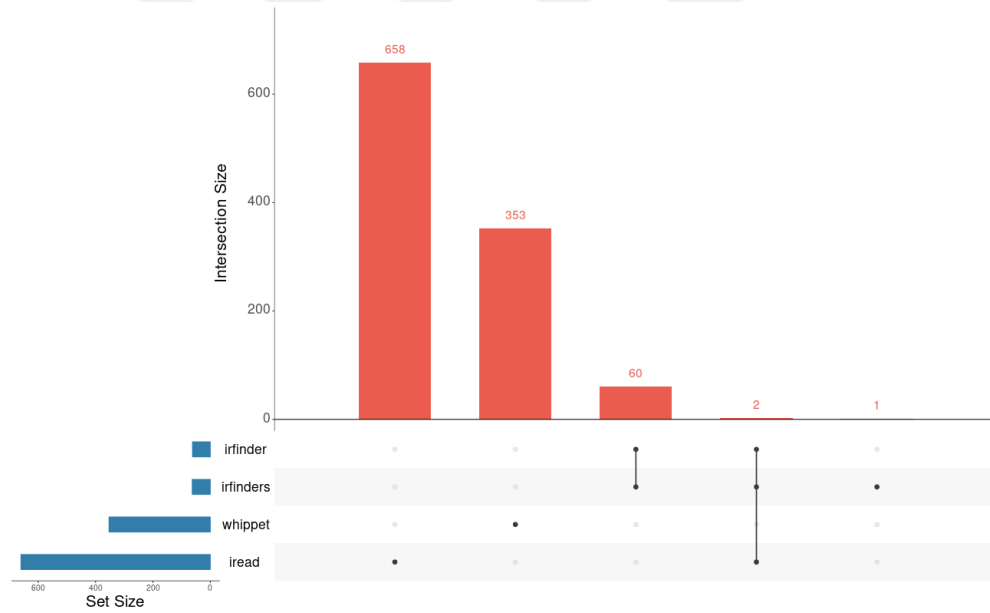


Şekil 4.18. Mide kanseri verilerinin kontrol grubuna göre aşağı yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına Intervene Upset Plot grafiği

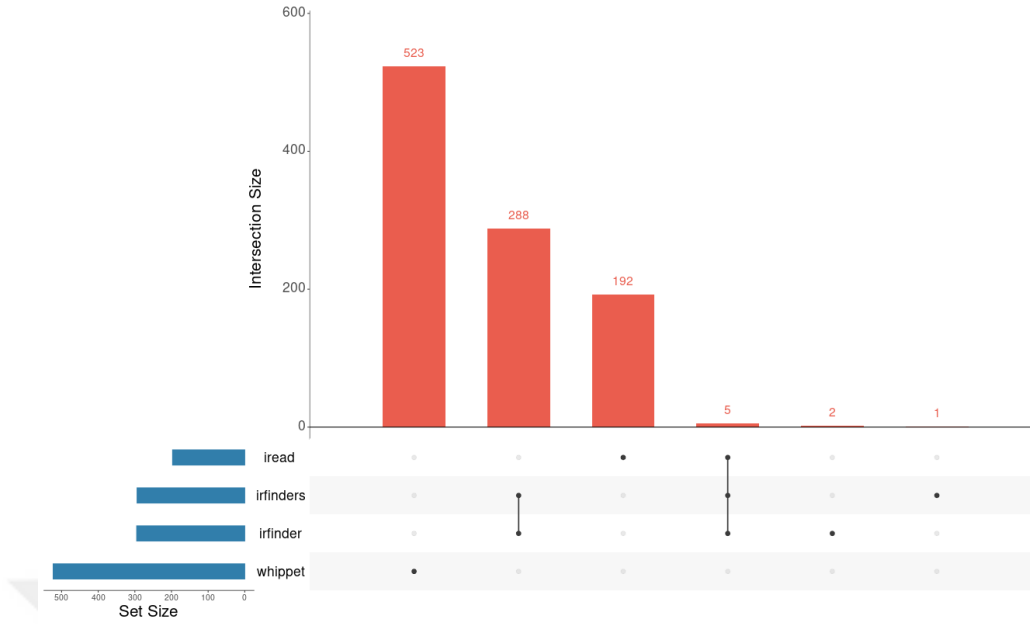
Mide kanseri yukarı yönlü intron tutulumu venn diyagramına göre IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının kesişim kümesinde 17 gen bölgesi ortak olarak tespit edilmiştir. Bu da toplam bulunan gen bölgelerinin %0.7'sini oluşturmaktadır. Aşağı yönlü intron tutulumunda ise ortak gen bölgesi tespit edilememiştir (Şekil4.16). Intervene algoritmasında Şekil 4.17 ve Şekil 4.18'de elde edilen grafiklerde bar grafiği olarak venn diyagramları ile benzer sonuçları içermektedir.



Şekil 4.19. Akciğer kanseri verilerinin kontrol grubuna göre yukarı (a) ve aşağı (b) yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına göre venn dağılımı

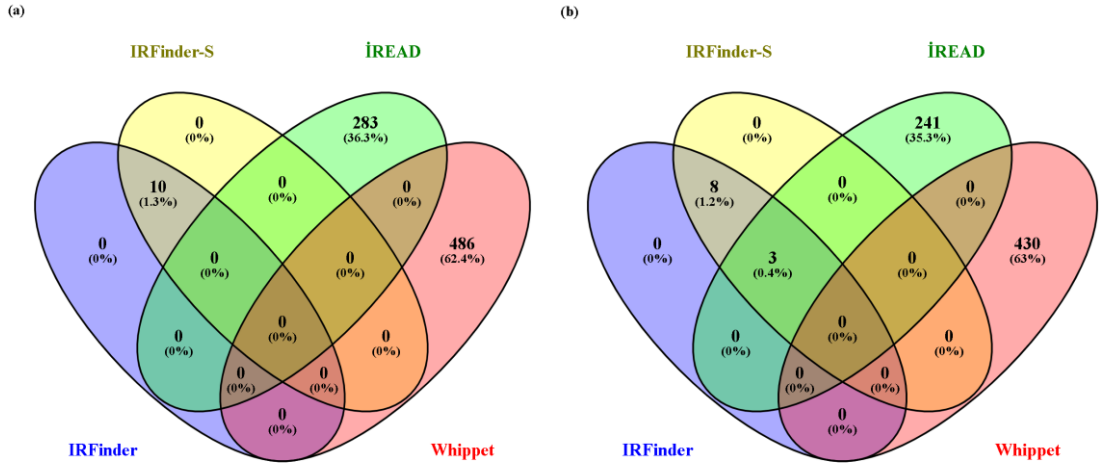


Şekil 4.20. Akciğer kanseri verilerinin kontrol grubuna göre yukarı yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına Intervene Upset Plot grafiği

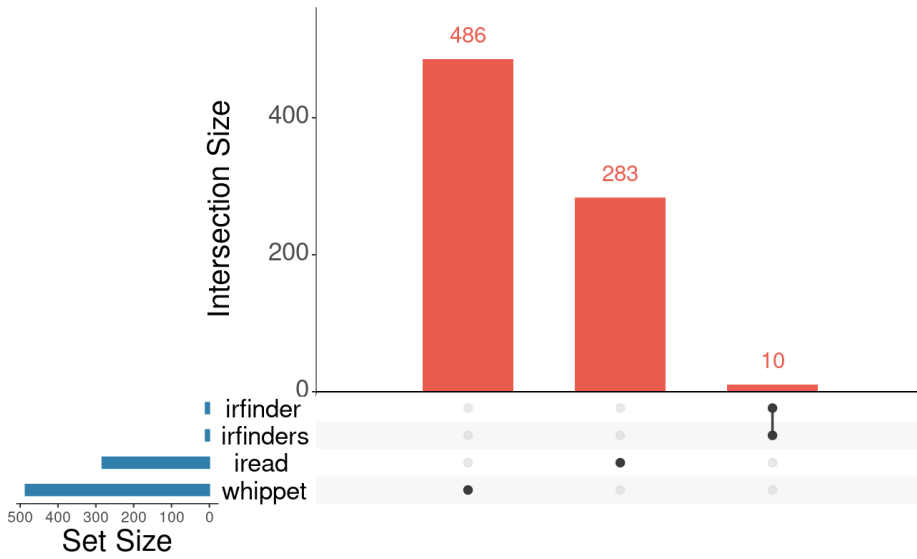


Şekil 4.21. Akciğer kanseri verilerinin kontrol grubuna göre aşağı yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına İntervene Upset Plot grafiği

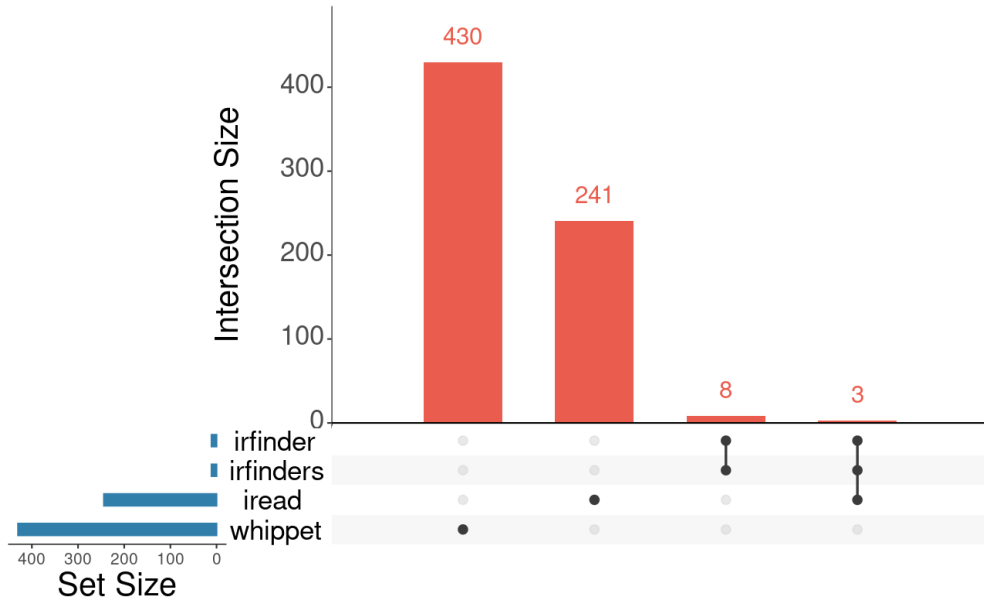
Akciğer kanseri yukarı yönlü intron tutulumu venn diyagramına göre IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının kesişim kümesinde 2 gen bölgesi ortak olarak tespit edilmiştir. Bu da toplam bulunan gen bölgelerinin %0.2'sini oluşturmaktadır. Akciğer kanseri aşağı yönlü intron tutulumu venn diyagramına göre IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının kesişim kümesinde 5 gen bölgesi ortak olarak tespit edilmiştir. Bu da toplam bulunan gen bölgelerinin %0.5'ini oluşturmaktadır (Şekil4.19). İntervene algoritmasında Şekil 4.20 ve Şekil 4.21'de elde edilen grafiklerde bar grafiği olarak venn diyagramları ile benzer sonuçları içermektedir.



Şekil 4.22. Prostat kanseri verilerinin kontrol grubuna göre yukarı yönlü (a) ve aşağı (b) yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına göre venn dağılımı



Şekil 4.23. Prostat kanseri verilerinin kontrol grubuna göre yukarı yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına Intervene Upset Plot grafiği



Şekil 4.24. Prostat kanseri verilerinin kontrol grubuna göre aşağı yönlü intron tutulumu belirlenen gen bölgelerinin algoritmalarından elde edilen analiz sonuçlarına İntervene Upset Plot grafiği

Prostat kanseri yukarı yönlü intron tutulumu venn diyagramına göre IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının kesişim kümesinde ortak gen bölgesi tespit edilememiştir. Akciğer kanseri aşağı yönlü intron tutulumu venn diyagramına göre IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının kesişim kümesinde 3 gen bölgesi ortak olarak tespit edilmiştir. Bu da toplam bulunan gen bölgelerinin %0.4'ünü oluşturmaktadır (Şekil 4.22). İntervene algoritmasında Şekil 4.23 ve Şekil 4.24'de elde edilen grafiklerde bar grafiği olarak venn diyagramları ile benzer sonuçları içermektedir.

Algoritmaların kesişim noktasında bildirilen genlerin gProfiler, ShinyGO analiz sonuçları Şekil 4.25 ile Şekil 4.101 arasında bildirilmiştir. Ayrıca gProfiler, ShinyGO analiz sonuçlara ilişkin ek bilgiler <https://github.com> adresinde bildirilmiştir. IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının kesişim kümesinde yukarı ve aşağı yönlü intron tutulumu belirlenen genlerin listesi Tablo 4.3'te bildirilmiştir.

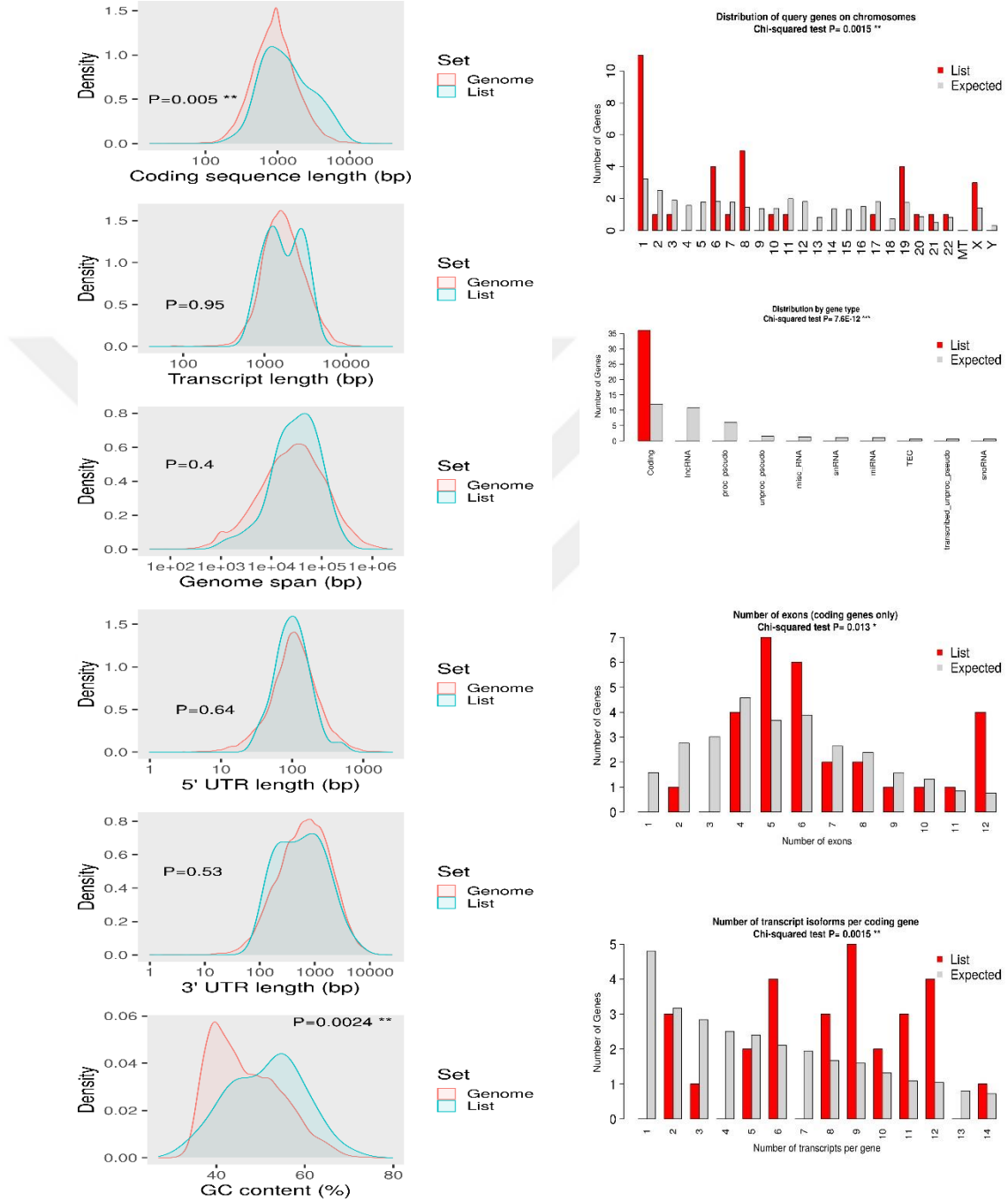
Tablo 4.3. IRFinder, IRfinder-S ve İREAD algortimalarının kesişim kümesinde bulunan genler.

Grup	Kanser türü	Anlamli bulunan genler
Tümör grubunda kontrol grubuna göre yukarı yönlü intron tutulumu	Meme	ENSG00000074181(NOTCH3), ENSG00000142949(PTPRF), ENSG00000104946(TBC1D17), ENSG00000180900(SCRIB), ENSG00000143614(GATAD2B), ENSG00000182492(BGN), ENSG00000057608(GDI2), ENSG00000141756(FKBP10), ENSG00000198952(SMG5), ENSG00000137166(FOXP4), ENSG00000112559(MDFI), ENSG00000124225(PMEPA1), ENSG00000182606(TRAK1), ENSG00000126464(PRR12), ENSG00000130119(GNL3L), ENSG00000092621(PHGDH), ENSG00000074800(ENO1), ENSG00000122515(ZMIZ2), ENSG00000159352(PSMD4), ENSG00000182827(ACBD3), ENSG00000133739(LRRCC1), ENSG00000047410(TPR), ENSG00000115414(FN1), ENSG00000179832(MROH1), ENSG00000137574(TGS1), ENSG00000142669(SH3BGRL3), ENSG00000204209(DAXX), ENSG00000100297(MCM5), ENSG00000171163(ZNF692), ENSG00000157601(MX1), ENSG00000132676(DAP3), ENSG00000099849(RASSF7), ENSG00000077312(SNRPA), ENSG00000204642(HLA-F), ENSG00000261236(BOP1), ENSG00000130827 (PLXNA3)
	Servikal	
	Kolorektal	ENSG00000080824 (HSP90AA1)
	Mide	ENSG00000015532(XYLT2), ENSG00000182054(IDH2), ENSG00000129353(SLC44A2), ENSG00000070081(NUCB2), ENSG00000125730(C3), ENSG00000163932(PRKCD), ENSG00000141448(GATA6), ENSG00000084636(COL16A1), ENSG00000149577(SIDT2), ENSG00000168542(COL3A1), ENSG00000159403(C1R), ENSG00000105552(BCAT2), ENSG00000100359(SGSM3), ENSG00000064601(CTSA),

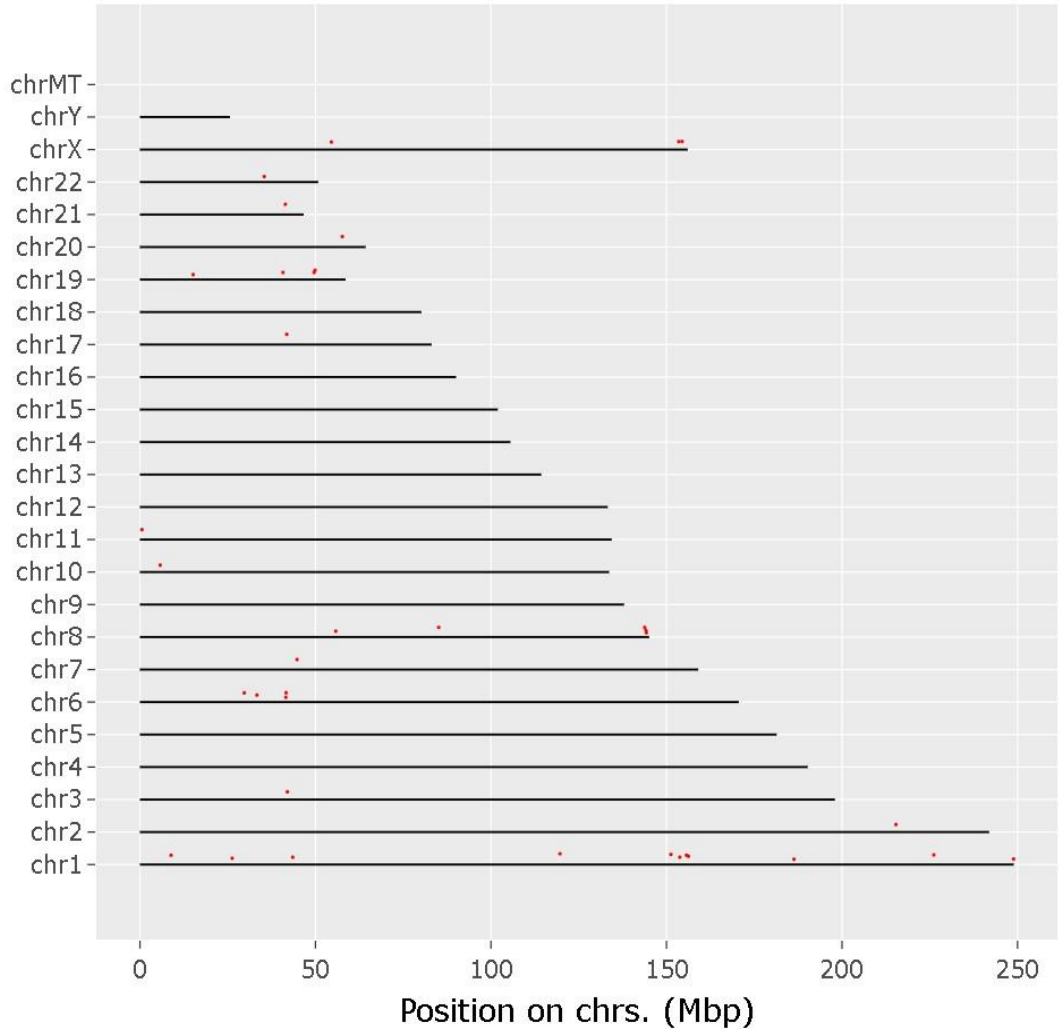
Tümör grubunda kontrol grubuna göre aşağı yönlü intron tutulumu		ENSG00000159348 (CYB5R1)
	Akciğer	ENSG00000183020 (AP2A2)
	Prostat	
	Meme	ENSG00000116560(SFPQ), ENSG00000136930(PSMB7), ENSG00000175221 (MED16)
	Servikal	
	Kolorektal	
	Mide	
	Akciğer	ENSG00000168487(BMP1), ENSG00000169715 (MT1E)
	Prostat	ENSG00000160789 (LMNA) ENSG00000160959 (LRRC14)

Meme kanseri verilerinin kontrol grubuna göre tüm algoritmalarda yüksek intron tutulumu gerçekleşen gen bölgelerine ait genlerin ShinyGO analiz sonuçları şu şekildedir. Venn diyagramında tüm algoritmalarda meme kanseri tümör verilerinin kontrol grubuna göre intron tutulumu olduğu bildirilen 47 gen bölgesi belirlenmiştir (Şekil 4.7). Özellikle ENSG00000074181(NOTCH3) geninin ENSG00000142949 (PTPRF), ENSG00000104946 (TBC1D17), ENSG00000180900 (SCRIB), ENSG00000143614 (GATAD2B), ENSG00000182492 (BGN) isimli genler ile birlikte oluşturduğu ShinyGO yolak analiz sonuçları ve gProfiler analiz sonuçları Şekil 4.25-4.48 arasında bildirilmiştir.

4.3.Meme kanseri örneklerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının tümör grubunda kontrol grubuna göre yukarı yönlü intron tutulumu belirlenen genlerin ShinyGO v0.80 analiz sonuçları



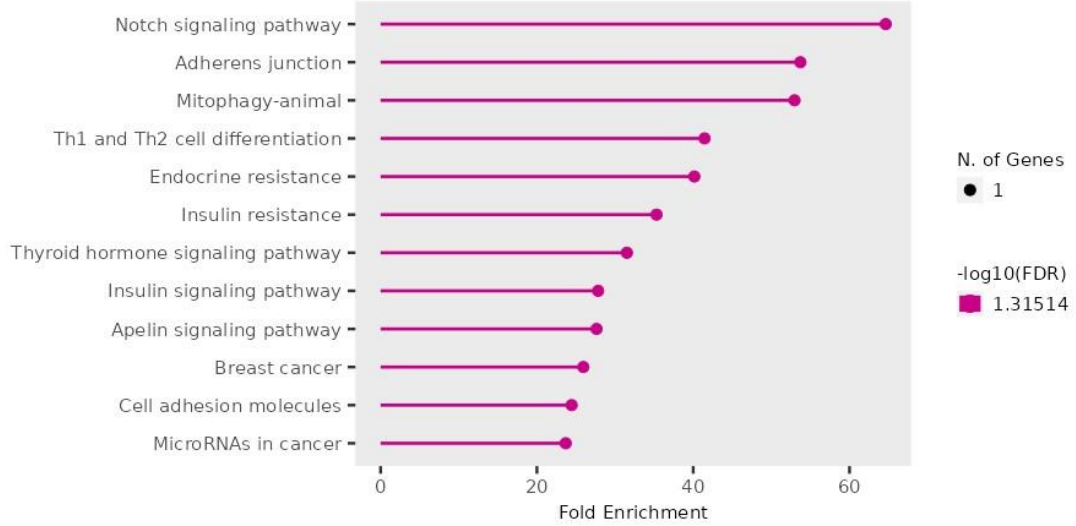
Şekil 4.25. Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin özelliklerine ait grafikler



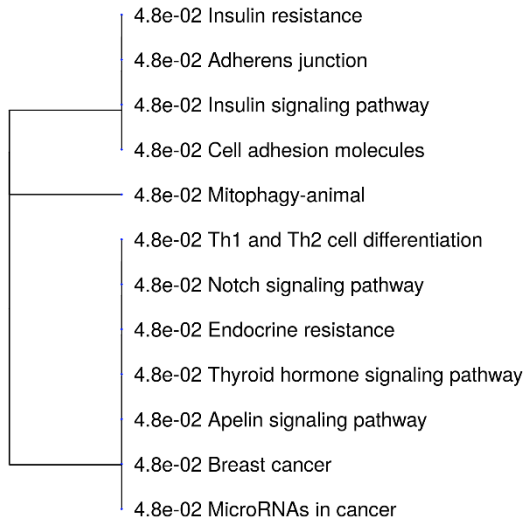
Şekil 4.26. Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin Genom üzerinde bulunduğu yerler (kırmızı ile belirtilenler)

Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin özelliklerine ait grafik Şekil 4.25'te, genom üzerinde bulunduğu yerle ilgili grafik ise Şekil 4.26'da bildirilmiştir.

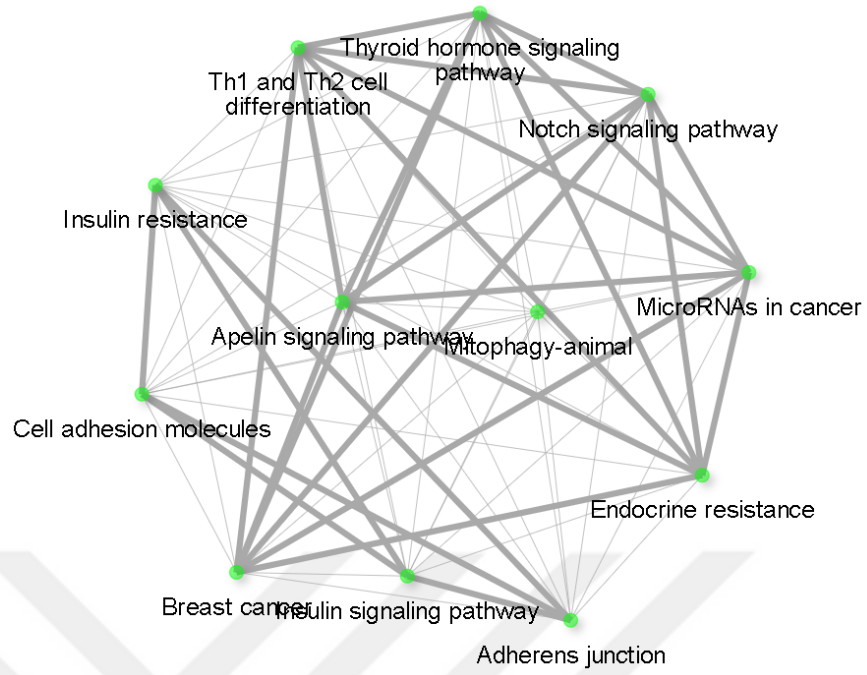
4.4.Meme Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarının Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin KEGG Yolak Analiz Sonuçları



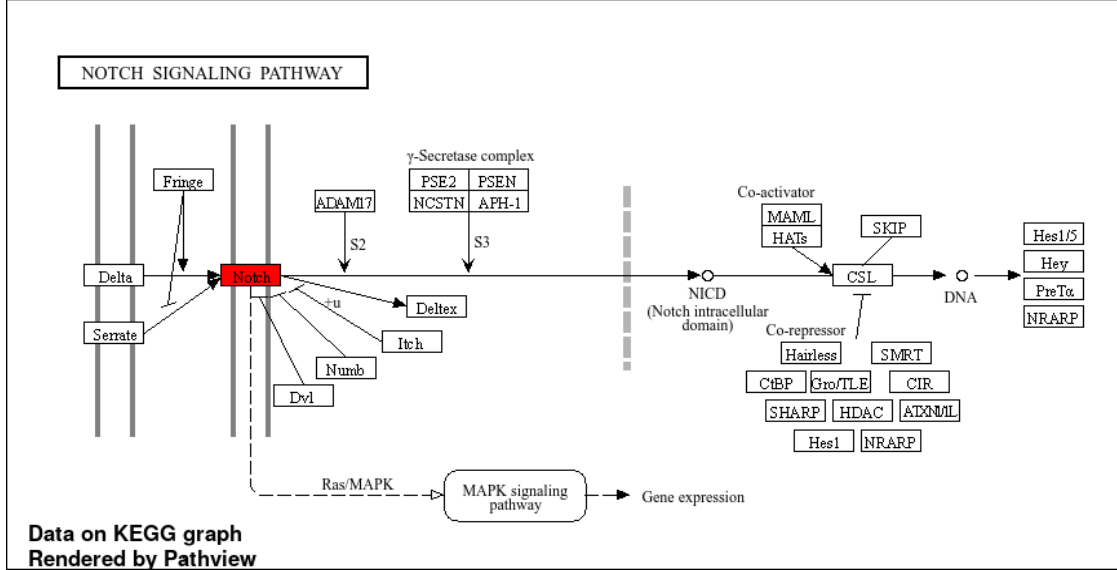
Şekil 4.27. Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin KEGG bar grafiği



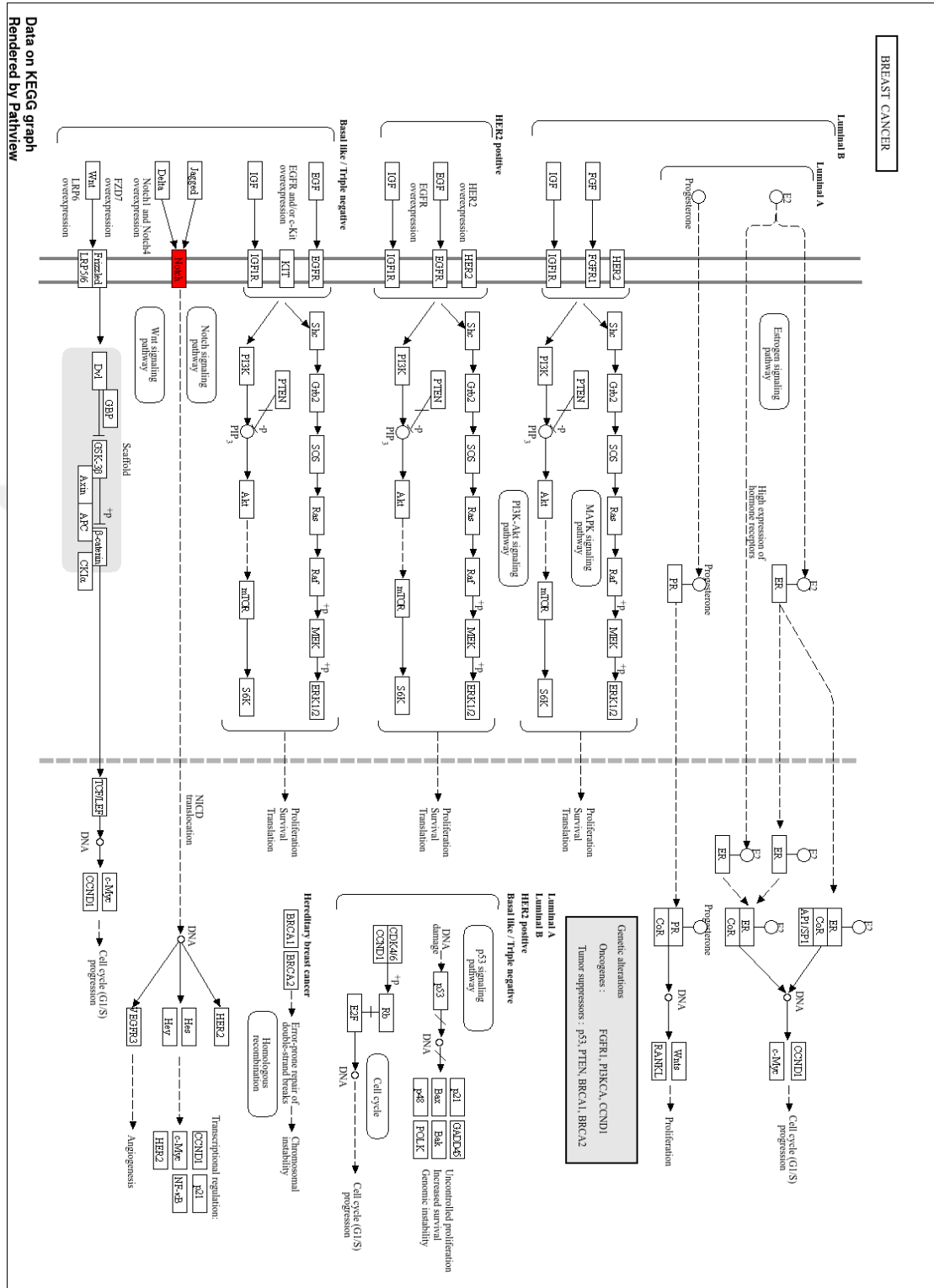
Şekil 4.28. Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin KEGG ağaç grafiği



Şekil 4.29. Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin KEGG ağ grafiği

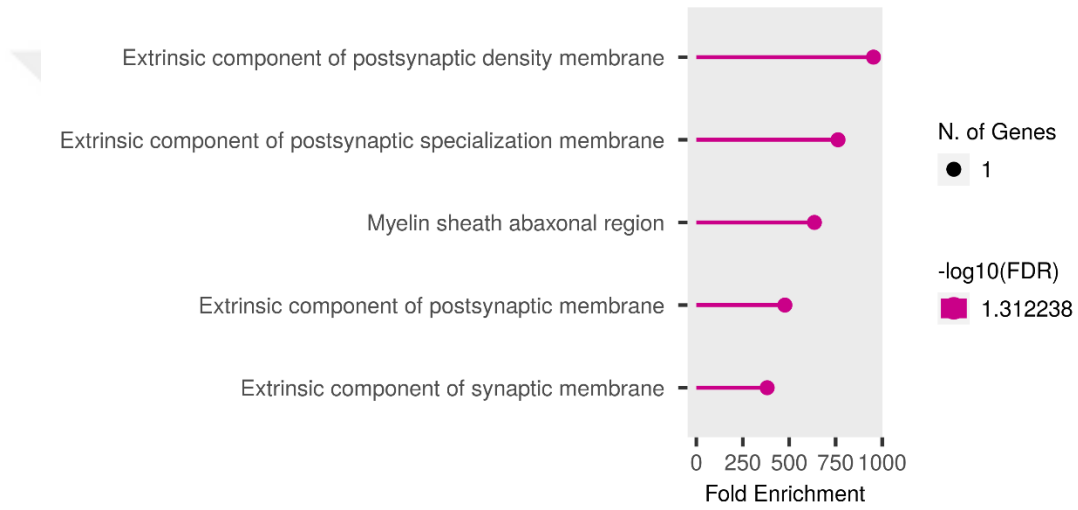


Şekil 4.30. Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin “KEGG - Notch Sinyal Yolağı” grafiği

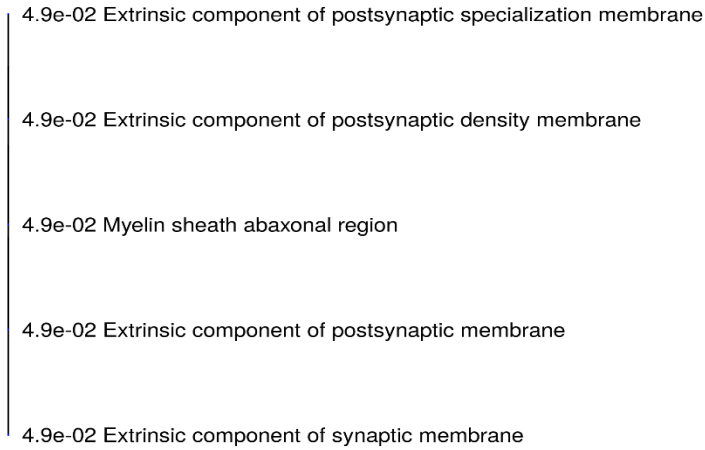


Meme Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin KEGG Yolak Analiz Sonuçlarında; KEGG bar grafiği Şekil 4.27’de, ağaç grafiği Şekil 4.28’de, ağ grafiği Şekil 4.29’da, KEGG Notch Sinyal Yolağı grafiği Şekil 4.30’da, KEGG – Th1 ve Th2 Hücre farklılaşması yolak grafiği Şekil 4.31’de, KEGG Meme kanseri yolak grafiği Şekil 4.32’de bildirilmiştir.

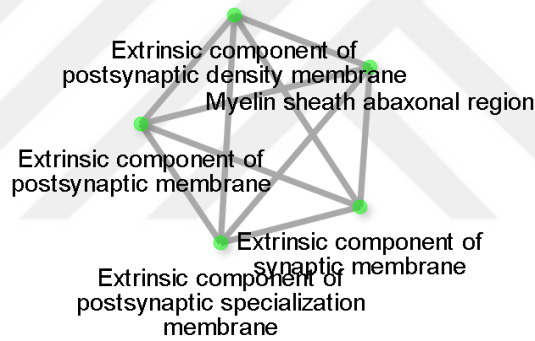
4.5.Meme Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin GO Hücresel İçerik Yolak Analiz Sonuçları



Şekil 4.33. Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel içerik bar grafiği



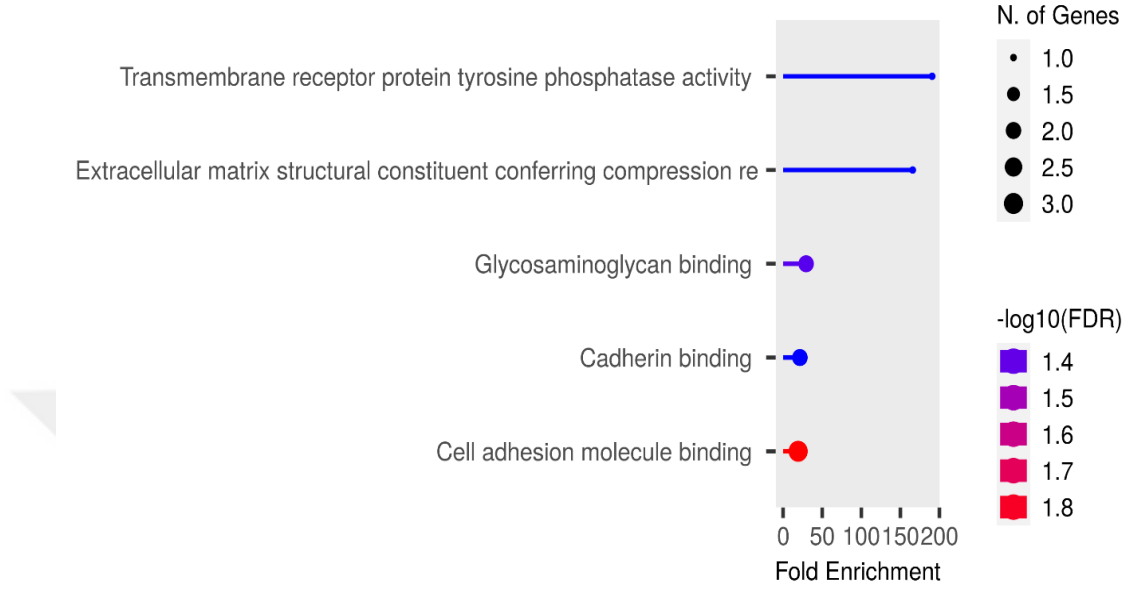
Şekil 4.34. Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel içerik ağaç grafiği



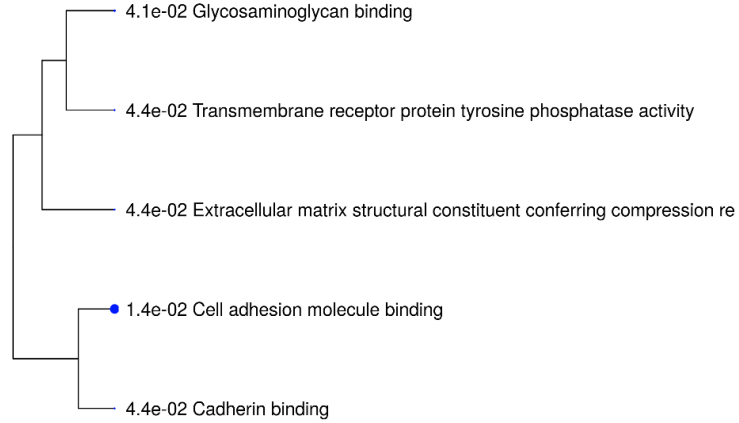
Şekil 4.35. Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel içerik ağ grafiği

Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca tümör grubunda kontrol grubuna göre yukarı yönlü intron tutulumu belirlenen genlerin GO hücresel içerik yolak analiz sonuçları bar grafiği Şekil 4.33’de, GO hücresel içerik ağaç grafiği Şekil 4.34’de, ağ grafiği ise Şekil 4.35’de bildirilmiştir.

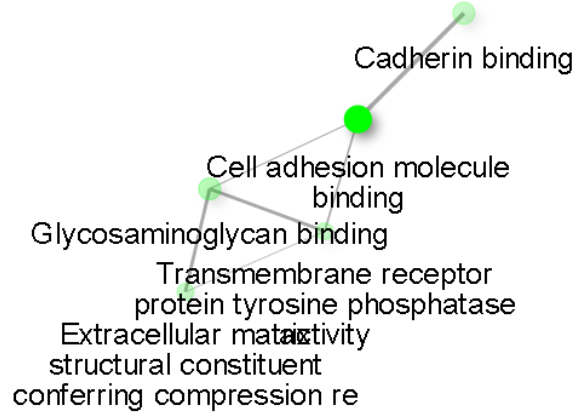
4.6.Meme Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarının Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin GO Moleküler Fonksiyon Yolak Analiz Sonuçları



Şekil 4.36. Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Moleküler fonksiyon bar grafiği



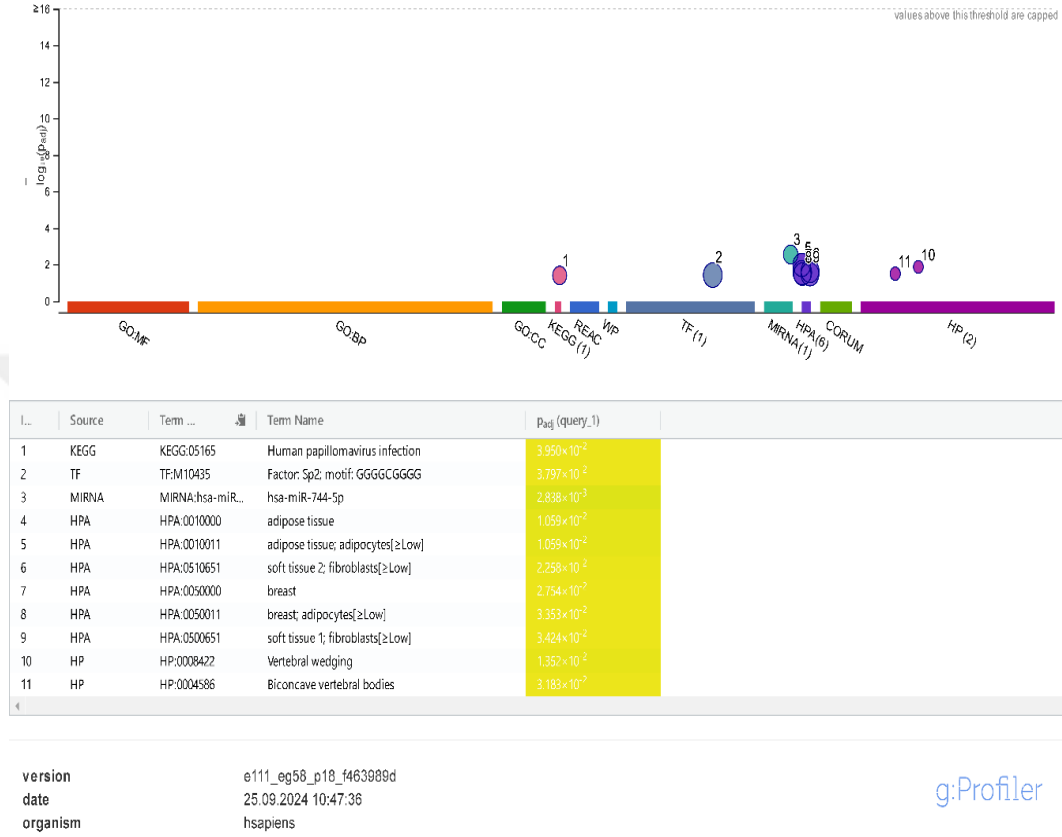
Şekil 4.37. Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Moleküler fonksiyon ağaç grafiği



Şekil 4.38. Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Moleküler fonksiyon ağ grafiği

Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca tümör grubunda kontrol grubuna göre yukarı yönlü intron tutulumu belirlenen genlerin GO moleküler fonksiyon yolak analiz sonuçlarından bar grafiği Şekil 4.36'da, GO moleküler fonksiyon ağ grafiği Şekil 4.37'de, GO moleküler fonksiyon ağ grafiği Şekil 4.38'de bildirilmiştir.

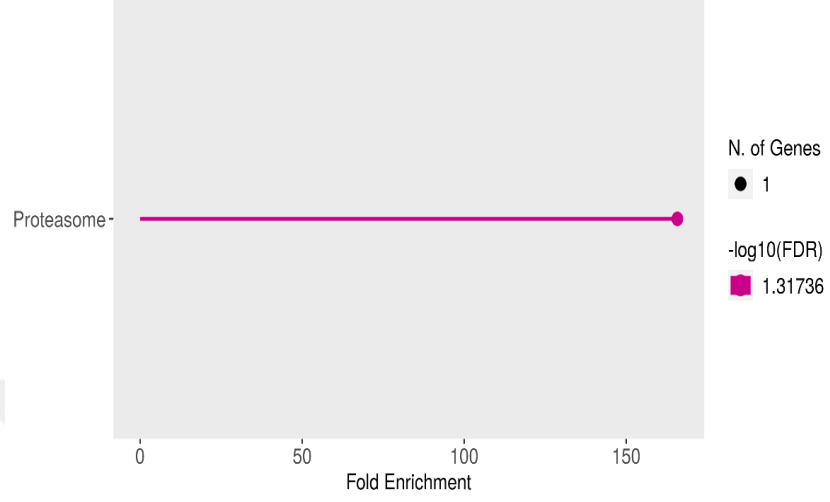
4.7.Meme Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarının Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin gProfiler Analiz Sonuçları



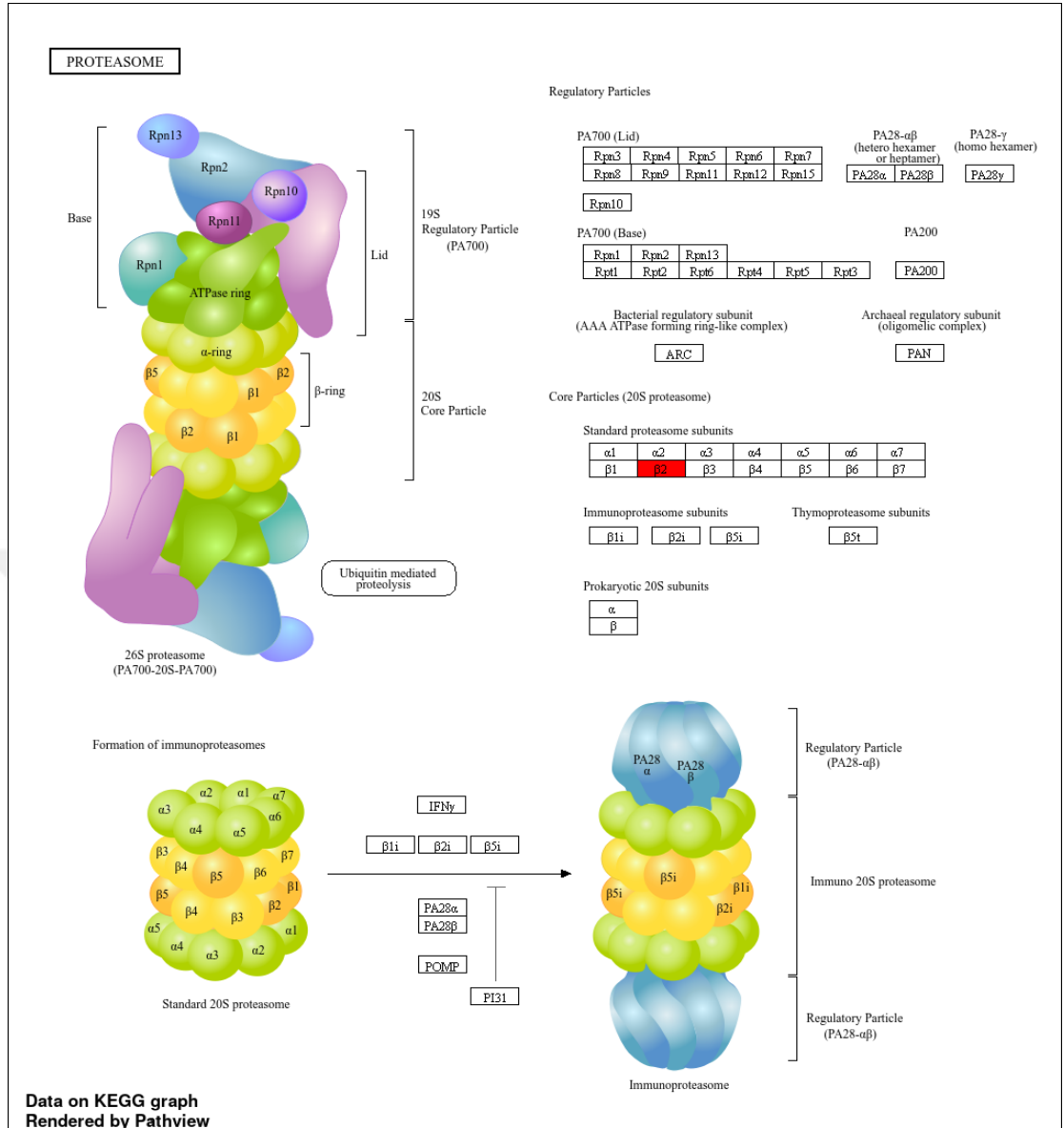
Şekil 4.39. Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin gProfiler g:GOST fonksiyonel profillemesi grafiği

Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının tümör grubunda kontrol grubuna göre yukarı yönlü intron tutulumu belirlenen genlerin gprofiler analiz sonuçları Şekil 4.39’da bildirilmiştir.

4.8.Meme Kanseri Örneklerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Aşağı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin ShinyGO v0.80 Analiz Sonuçları



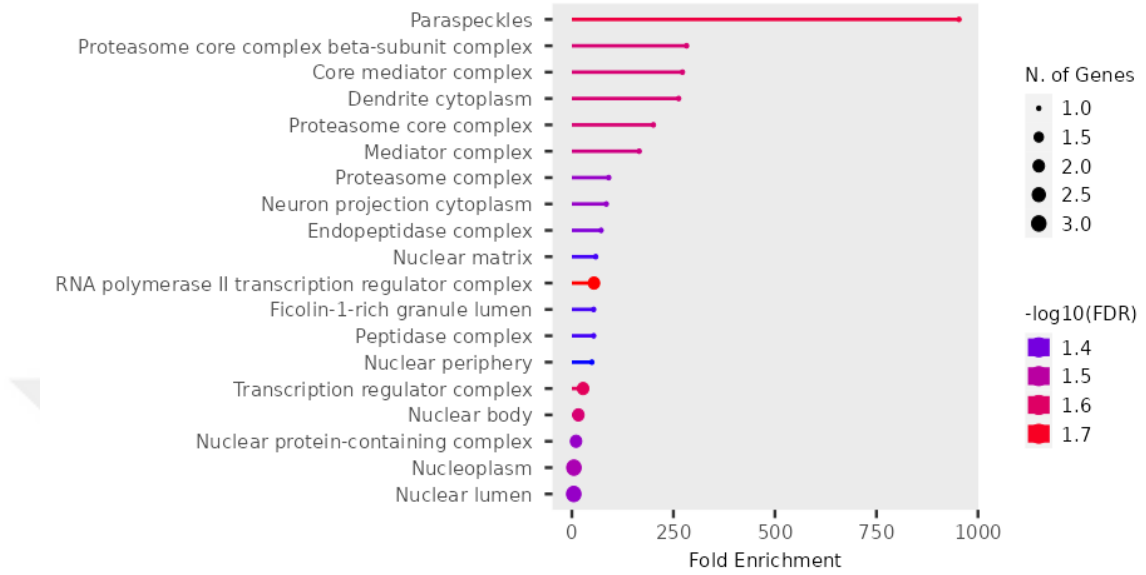
Şekil 4.40. Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin KEGG bar grafiği



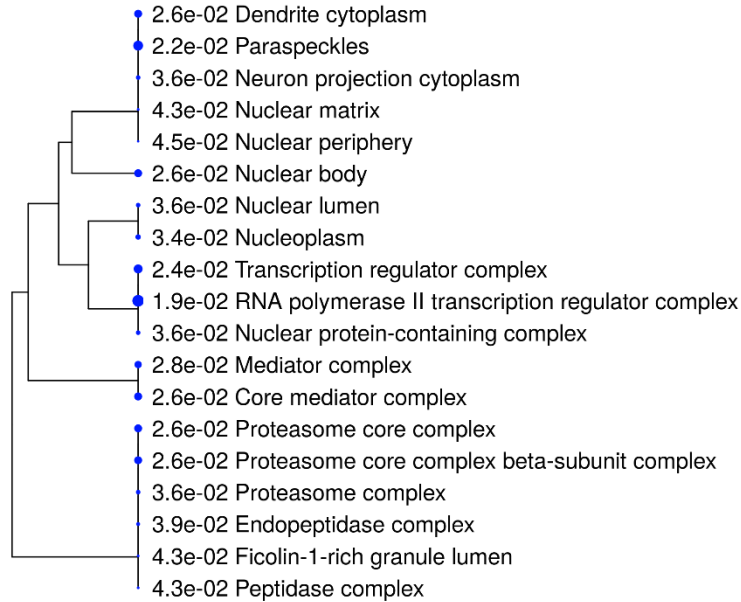
Şekil 4.41. Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin “KEGG Proteazom Yolağı” grafiği

Meme kanseri örneklerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca tümör grubunda kontrol grubuna göre aşağı yönlü intron tutulumu belirlenen genlerin ShinyGo v0.80 analiz sonuçları bar grafiği Şekil 4.40 ve KEGG Proteozom Yolağı grafiği Şekil 4.41’de bildirilmiştir.

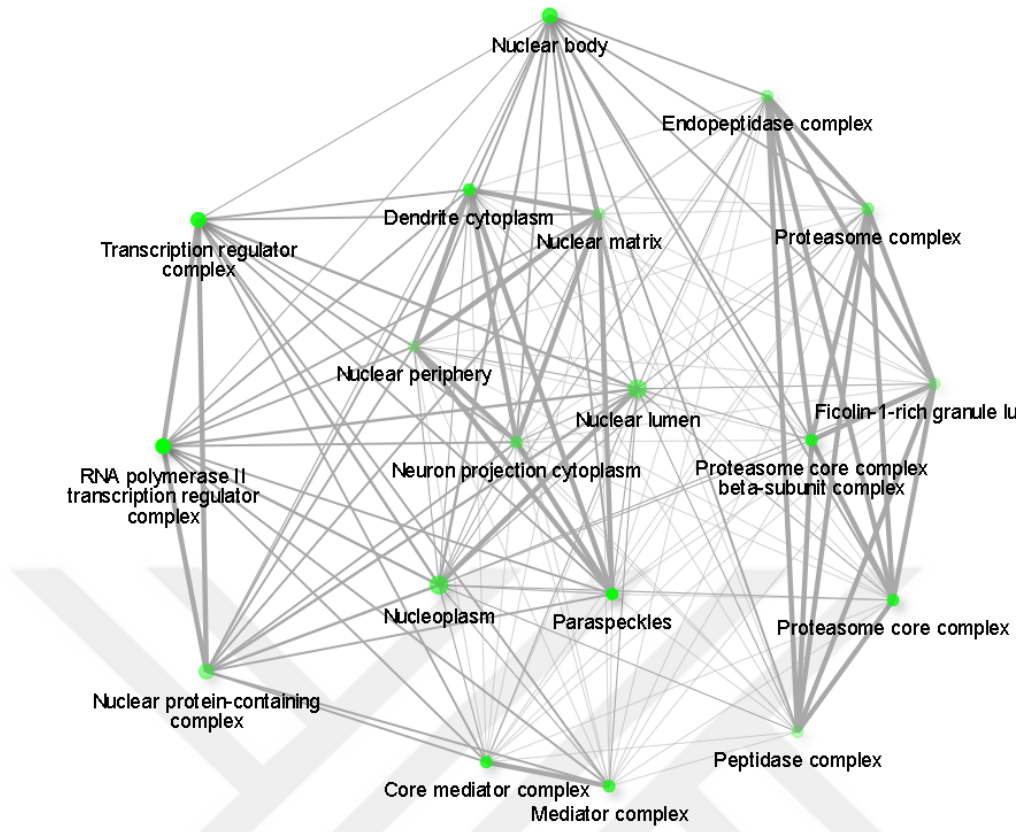
4.9. Meme Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarının Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Aşağı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin GO Hücresel İçerik Yolak Analiz Sonuçları



Şekil 4.42. Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel içerik bar grafiği



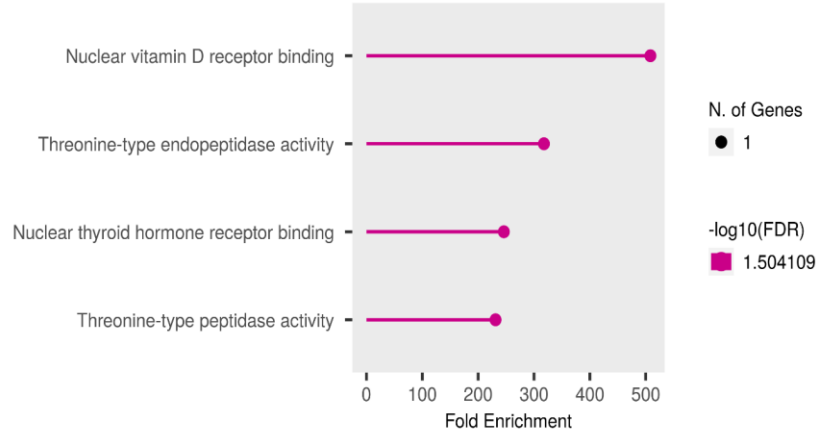
Şekil 4.43. Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel içerik ağaç grafiği



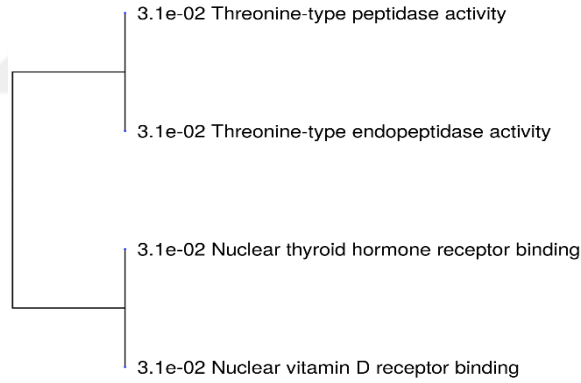
Şekil 4.44. Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun düşük olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel içerik ağ grafiği

Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca tümör grubunda kontrol grubuna göre aşağı yönlü intron tutulumu belirlenen genlerin GO hücresel içerik yolak analiz sonuçları bar grafiği Şekil 4.42’de, ağ grafiği Şekil 4.43’de, ağ grafiği ise Şekil 4.44’te bildirilmiştir.

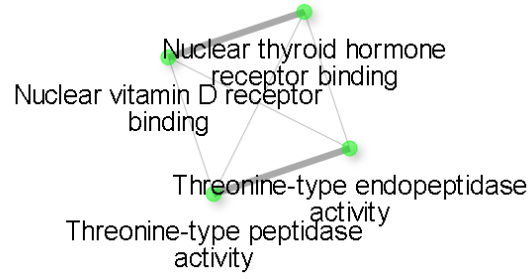
4.10.Meme Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Aşağı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin GO Moleküler Fonksiyon Yolak Analiz Sonuçları



Şekil 4.45. Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin GO Moleküler fonksiyon bar grafiği



Şekil 4.46. Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin GO Moleküler fonksiyon ağaç grafiği



Şekil 4.47. Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin GO Moleküler fonksiyon ağ grafiği

Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca tümör grubunda kontrol grubuna göre aşağı yönlü intron tutulumu belirlenen genlerin GO moleküler fonksiyon yolak analiz sonuçları bar grafiği Şekil 4.45'te, ağaç grafiği Şekil 4.46'da, ağ grafiği Şekil 4.47'de bildirilmiştir.

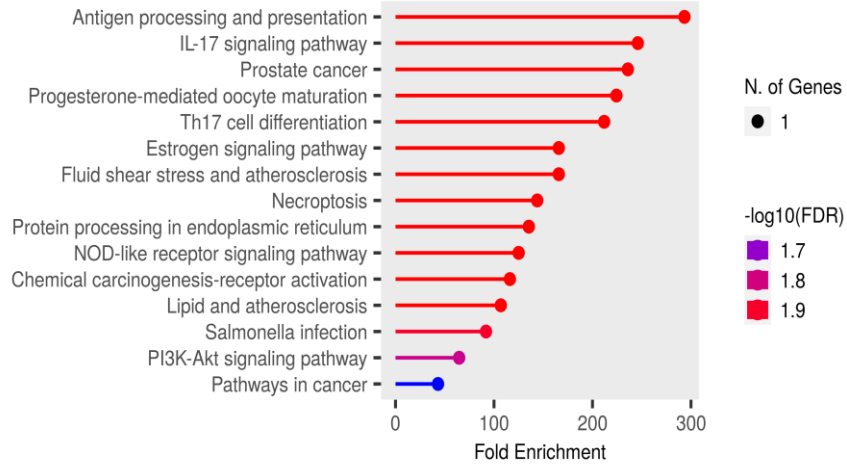
4.11.Meme Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarının Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Aşağı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin gProfiler Analiz Sonuçları



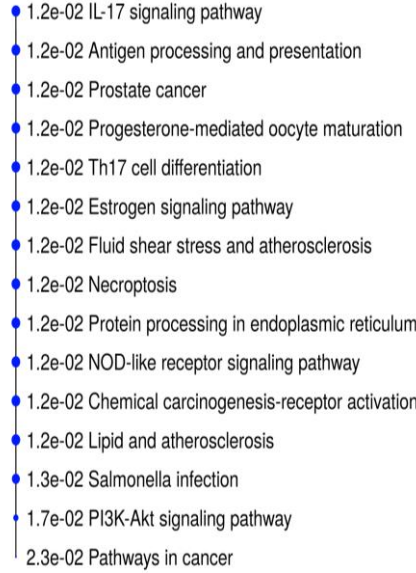
Şekil 4.48. Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin gProfiler g:GOST fonksiyonel profillemesi grafiği

Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının tümör grubunda kontrol grubuna göre aşağı yönlü intron tutulumu belirlenen genlerin gProfiler analiz sonuçları Şekil 4.48’de bildirilmiştir.

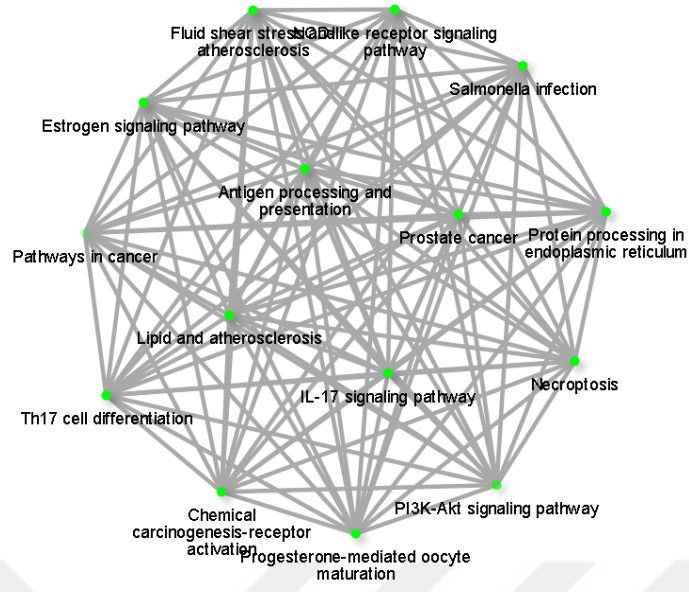
4.12.Kolorektal Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin KEGG Yolak Analiz Sonuçları



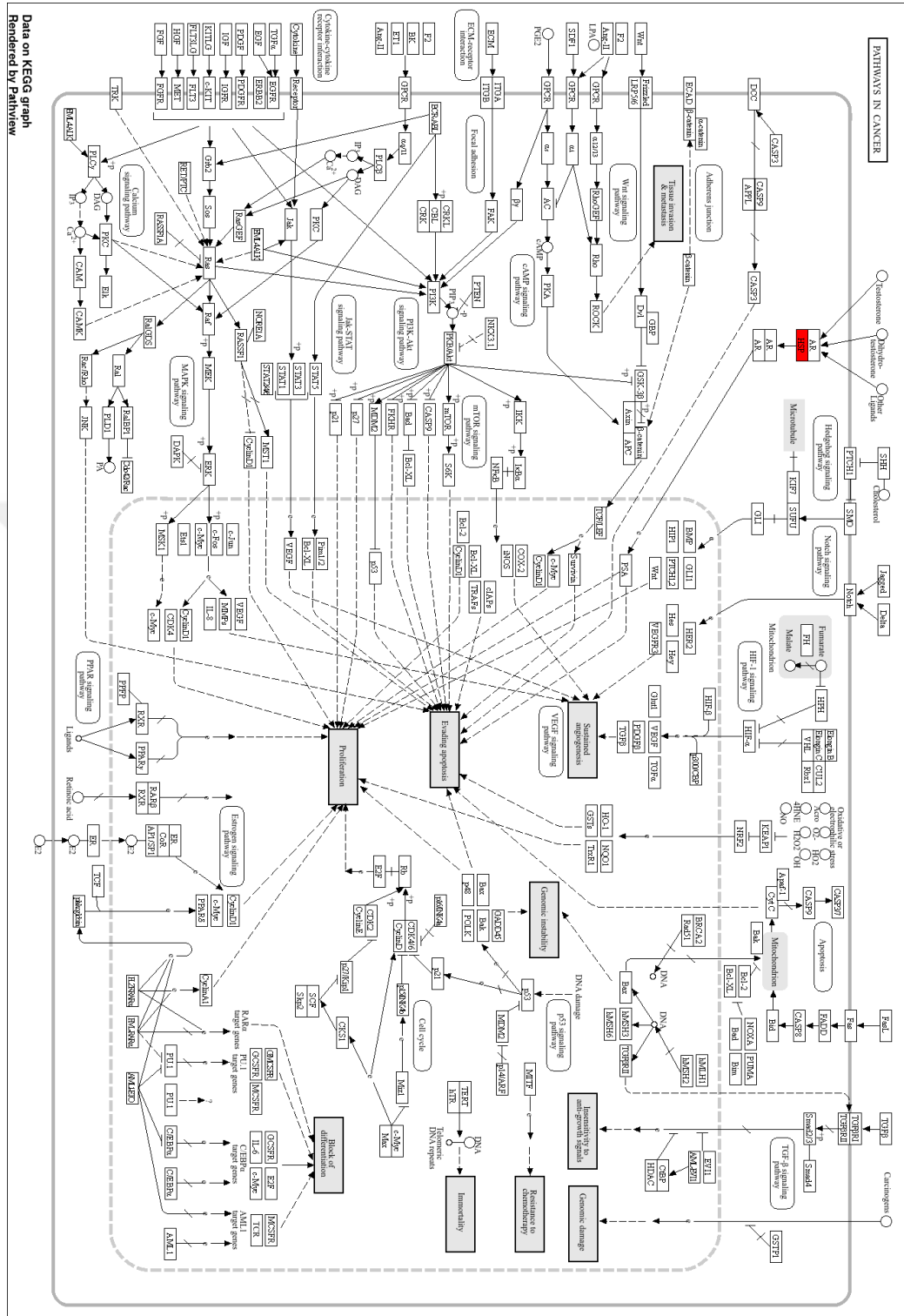
Şekil 4.49. Kolorektal kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin KEGG bar grafiği



Şekil 4.50. Kolorektal kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin KEGG ağaç grafiği



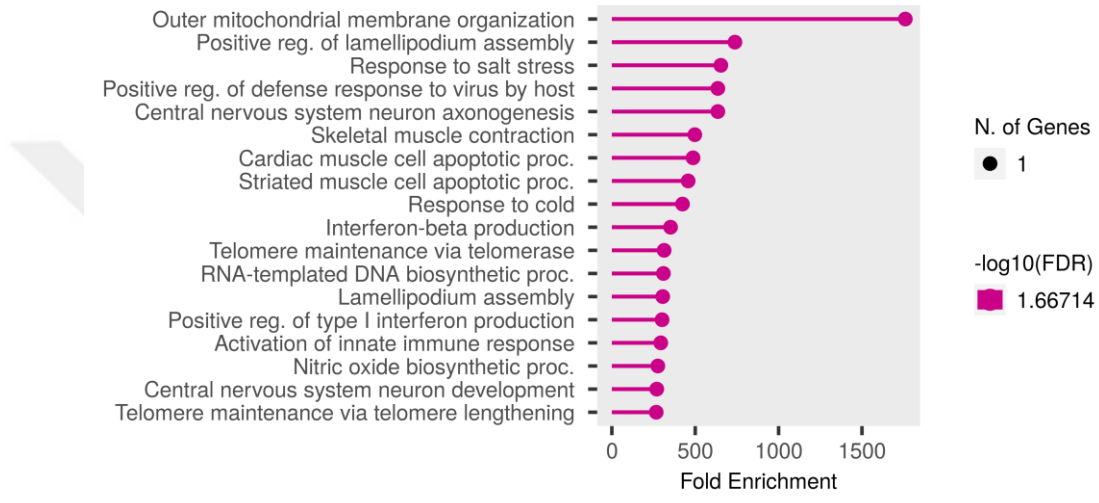
Şekil 4.51. Kolorektal kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin KEGG ağ grafiği



Şekil 4.52. Kolorektal kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin “KEGG Kanser Yolağı” grafiği

Kolorektal kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca tümör grubunda kontrol grubuna göre yukarı yönlü intron tutulumu belirlenen genlerin KEGG yolak analiz sonuçları bar grafiği Şekil 4.49’da, ağaç grafiği Şekil 4.50’de, ağ grafiği Şekil 4.51’de, KEGG Kanser Yolağı grafiği Şekil 4.52’de bildirilmiştir.

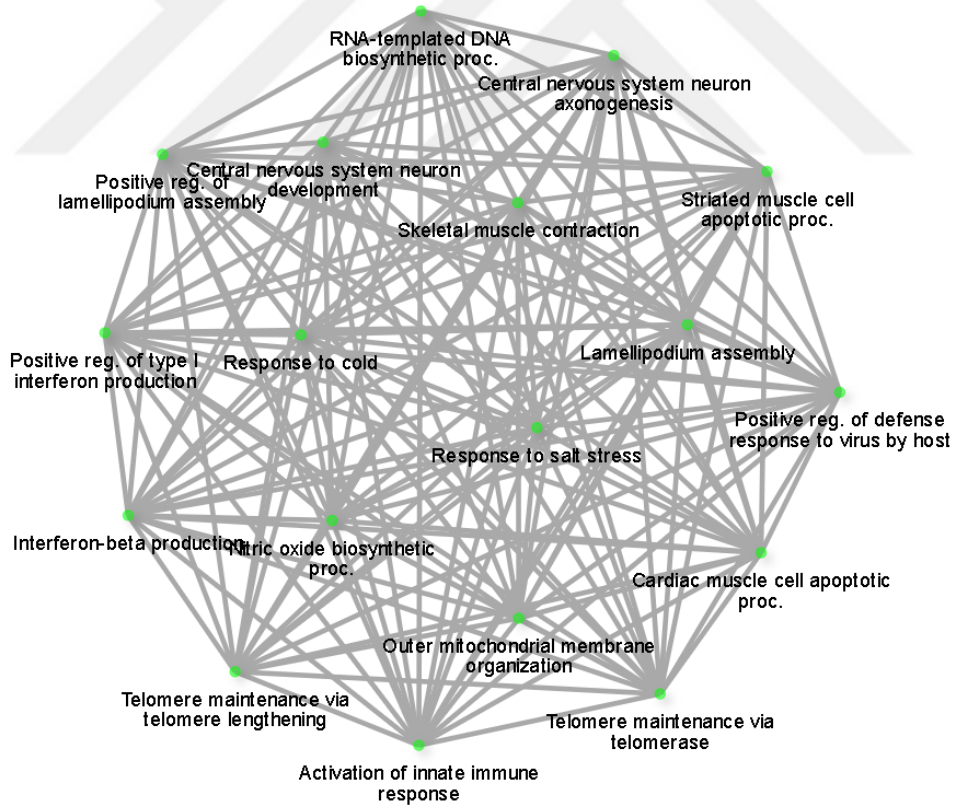
4.13.Kolorektal Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin GO Biyolojik İşleyiş Yolak Analiz Sonuçları



Şekil 4.53. Kolorektal kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Biyolojik işleyiş bar grafiği

2.2e-02 Positive reg. of lamellipodium assembly
 2.2e-02 Outer mitochondrial membrane organization
 2.2e-02 Response to salt stress
 2.2e-02 Positive reg. of defense response to virus by host
 2.2e-02 Central nervous system neuron axonogenesis
 2.2e-02 Skeletal muscle contraction
 2.2e-02 Cardiac muscle cell apoptotic proc.
 2.2e-02 Striated muscle cell apoptotic proc.
 2.2e-02 Response to cold
 2.2e-02 Interferon-beta production
 2.2e-02 Telomere maintenance via telomerase
 2.2e-02 RNA-templated DNA biosynthetic proc.
 2.2e-02 Lamellipodium assembly
 2.2e-02 Positive reg. of type I interferon production
 2.2e-02 Activation of innate immune response
 2.2e-02 Nitric oxide biosynthetic proc.
 2.2e-02 Central nervous system neuron development
 2.2e-02 Telomere maintenance via telomere lengthening

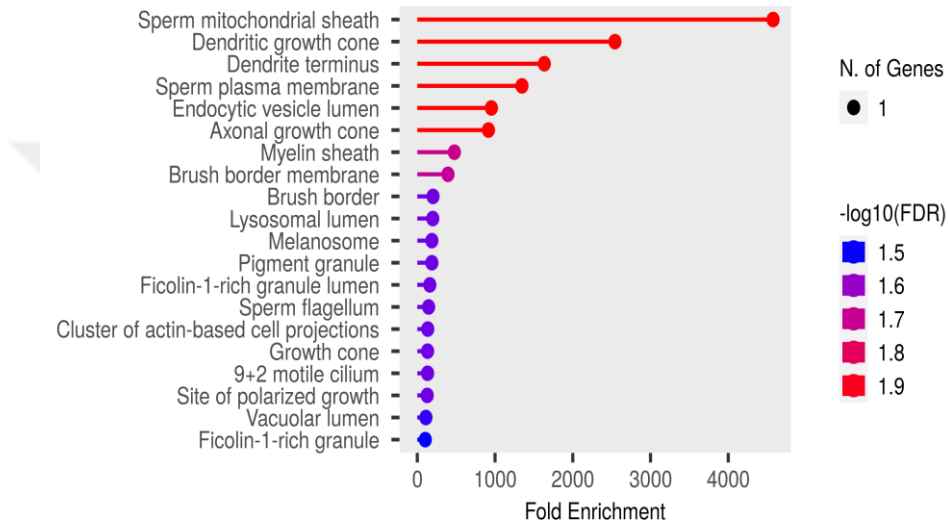
Şekil 4.54. Kolorektal kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Biyolojik işleyiş ağaç grafiği



Şekil 4.55. Kolorektal kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Biyolojik işleyiş ağ grafiği

Kolorektal kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca tümör grubunda kontrol grubuna göre yukarı yönlü intron tutulumu belirlenen genlerin GO Biyolojik işleyiş yolak analiz sonuçları bar grafiği Şekil 4.53'te, ağaç grafiği Şekil 4.54'te, ağ grafiği Şekil 4.55'te bildirilmiştir.

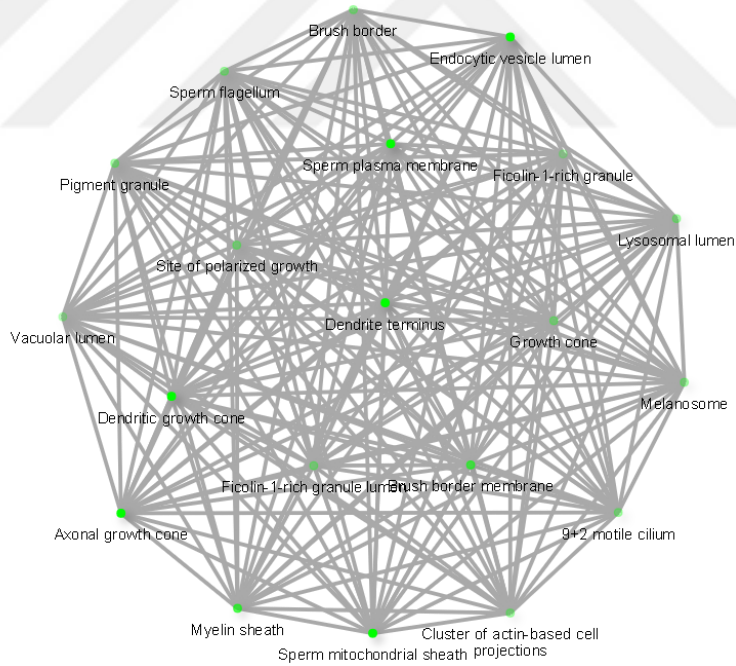
4.14.Kolorektal Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin GO Hücresel İçerik Yolak Analiz Sonuçları



Şekil 4.56. Kolorektal kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel içerik bar grafiği

- 1.2e-02 Dendritic growth cone
- 1.2e-02 Sperm mitochondrial sheath
- 1.2e-02 Dendrite terminus
- 1.2e-02 Sperm plasma membrane
- 1.2e-02 Endocytic vesicle lumen
- 1.2e-02 Axonal growth cone
- 1.9e-02 Myelin sheath
- 2.1e-02 Brush border membrane
- 2.8e-02 Brush border
- 2.8e-02 Lysosomal lumen
- 2.8e-02 Melanosome
- 2.8e-02 Pigment granule
- 2.8e-02 Ficolin-1-rich granule lumen
- 2.8e-02 Sperm flagellum
- 2.8e-02 Cluster of actin-based cell projections
- 2.8e-02 Growth cone
- 2.8e-02 9+2 motile cilium
- 2.8e-02 Site of polarized growth
- 3.1e-02 Vacuolar lumen
- 3.2e-02 Ficolin-1-rich granule

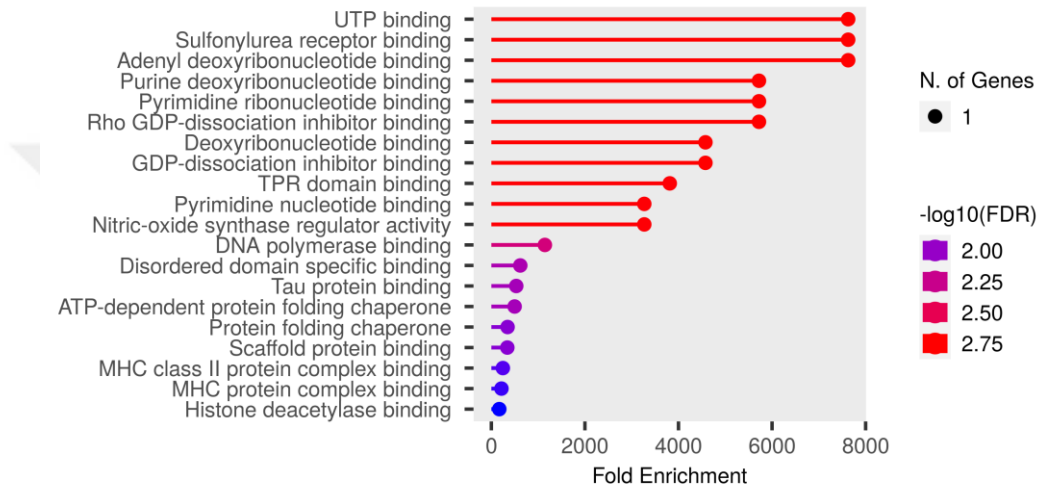
Şekil 4.57. Kolorektal kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel içerik ağaç grafiği



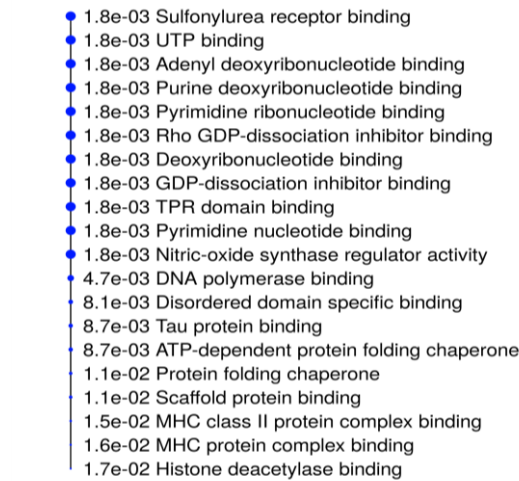
Şekil 4.58. Kolorektal kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel içerik ağ grafiği

Kolorektal kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca tümör grubunda kontrol grubuna göre yukarı yönlü intron tutulumu belirlenen genlerin GO Hücresel içerik yolak analiz sonuçları bar grafiği Şekil 4.56’te, ağaç grafiği Şekil 4.57’de, ağ grafiği Şekil 4.58’de bildirilmiştir.

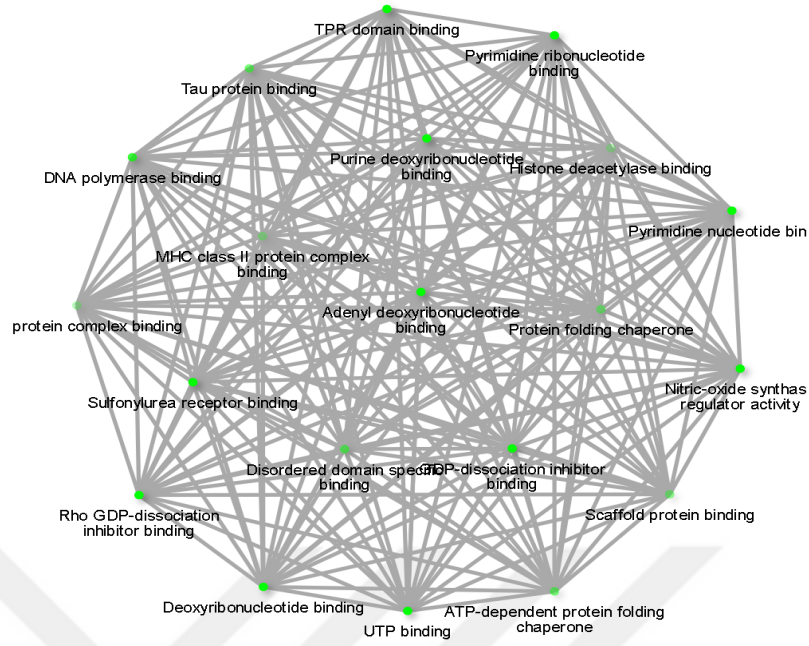
4.15.Kolorektal Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin GO Moleküler Fonksiyon Yolak Analiz Sonuçları



Şekil 4.59. Kolorektal kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Moleküler fonksiyon bar grafiği



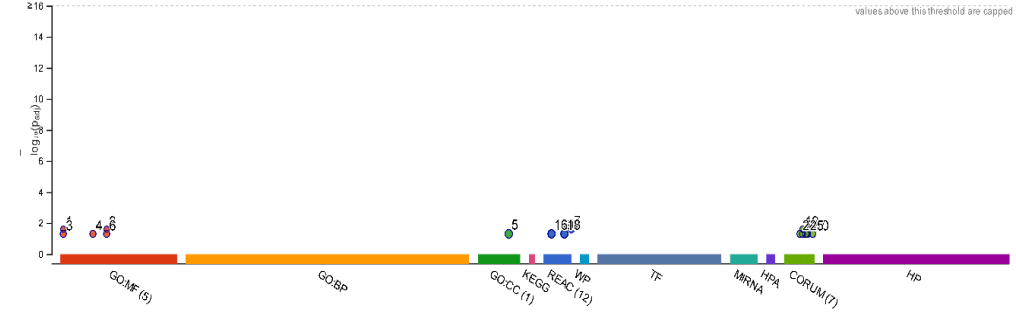
Şekil 4.60. Kolorektal kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Moleküler fonksiyon ağaç grafiği



Şekil 4.61. Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Moleküler fonksiyon ağ grafiği

Kolorektal kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınınca tümör grubunda kontrol grubuna göre yukarı yönlü intron tutulumu belirlenen genlerin GO Moleküler fonksiyon yolak analiz sonuçları bar grafiği Şekil 4.59'da, ağaç grafiği Şekil 4.60'ta, ağ grafiği Şekil 4.61'de bildirilmiştir.

4.16.Kolorektal Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin gProfiler Analiz Sonuçları



...	Source	Term ...	Term Name	Padj (query_1)
1	GO:MF	GO:0002135	CTP binding	2.499×10^{-2}
2	GO:MF	GO:0032564	dATP binding	2.499×10^{-2}
3	GO:MF	GO:0002134	UTP binding	4.998×10^{-2}
4	GO:MF	GO:0017098	sulfonylurea receptor binding	4.999×10^{-2}
5	GO:CC	GO:0097226	sperm mitochondrial sheath	4.984×10^{-2}
6	GO:MF	GO:0032558	adenyl deoxyribonucleotide binding	4.998×10^{-2}
7	REAC	REAC:R-HSA-19...	vRNP Assembly	2.500×10^{-2}
8	REAC	REAC:R-HSA-96...	Resistance of ERBB2 KD mutants to afatinib	4.999×10^{-2}
9	REAC	REAC:R-HSA-96...	Resistance of ERBB2 KD mutants to osimertinib	4.999×10^{-2}
10	REAC	REAC:R-HSA-96...	Resistance of ERBB2 KD mutants to sapitinib	4.999×10^{-2}
11	REAC	REAC:R-HSA-96...	Resistance of ERBB2 KD mutants to tesevatinib	4.999×10^{-2}
12	REAC	REAC:R-HSA-96...	Resistance of ERBB2 KD mutants to trastuzumab	4.999×10^{-2}
13	REAC	REAC:R-HSA-96...	Resistance of ERBB2 KD mutants to AEE788	4.999×10^{-2}
14	REAC	REAC:R-HSA-96...	Drug-mediated inhibition of ERBB2 signaling	4.999×10^{-2}
15	REAC	REAC:R-HSA-96...	Drug resistance in ERBB2 TMD/JMD mutants	4.999×10^{-2}
16	REAC	REAC:R-HSA-96...	Drug resistance in ERBB2 KD mutants	4.999×10^{-2}
17	REAC	REAC:R-HSA-96...	Resistance of ERBB2 KD mutants to lapatinib	4.999×10^{-2}
18	REAC	REAC:R-HSA-96...	Resistance of ERBB2 KD mutants to neratinib	4.999×10^{-2}
19	CORUM	CORUM:5716	NOS3-HSP90 complex, VEGF induced	2.497×10^{-2}
20	CORUM	CORUM:7284	GSK3B-HSP90AA1-PKM2 complex	4.993×10^{-2}
21	CORUM	CORUM:6402	NMNAT2-HSP90 complex	4.993×10^{-2}
22	CORUM	CORUM:6399	DNAJC7-HSPA8-HSP90AA1 complex	4.993×10^{-2}
23	CORUM	CORUM:5718	NOS3-HSP90-AKT complex, VEGF induced	4.993×10^{-2}
24	CORUM	CORUM:4158	HSP90-FKBP38-CAM-Cat(+) complex	4.993×10^{-2}
25	CORUM	CORUM:6591	Hsp90-p23 complex	4.993×10^{-2}

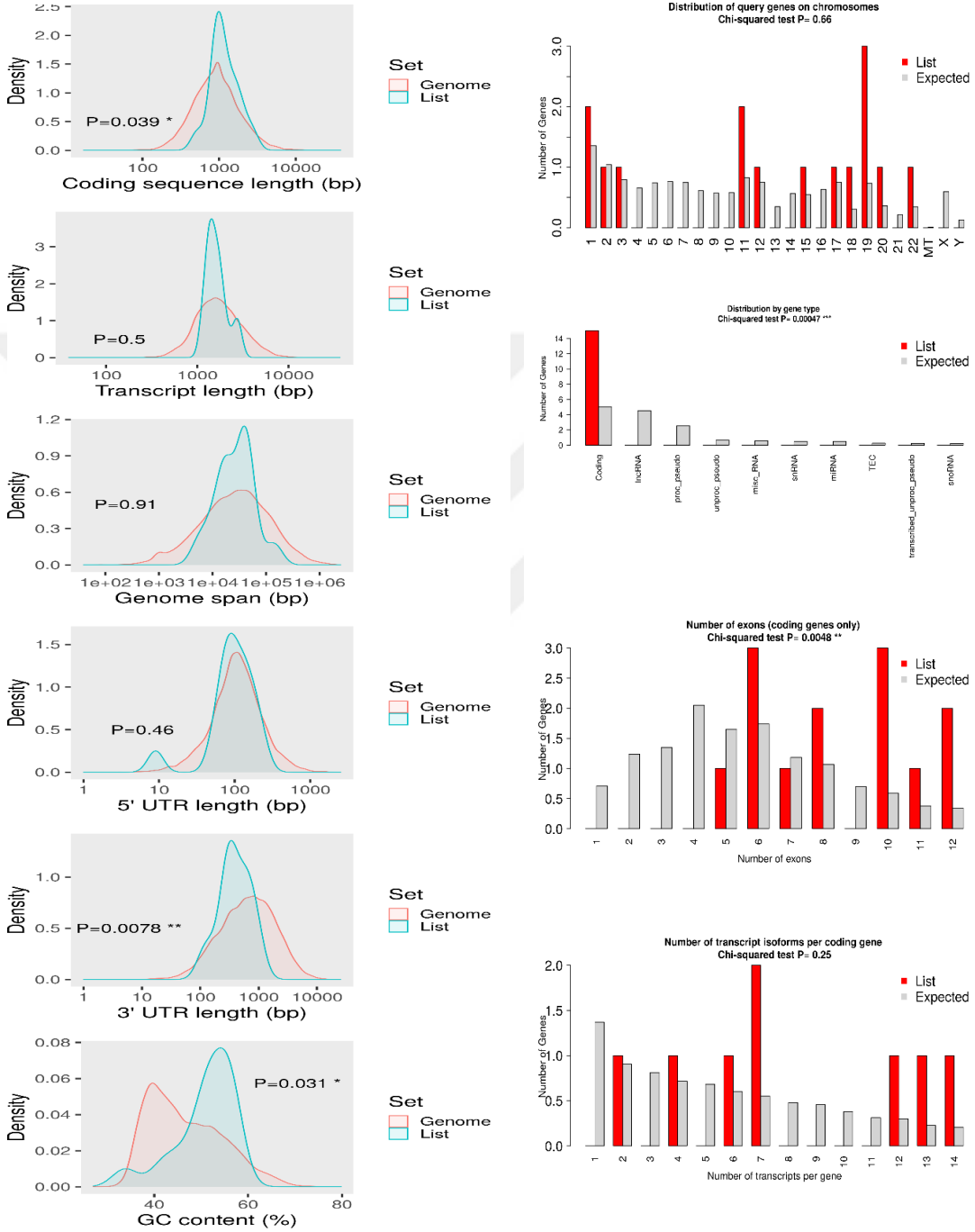
version e111_eg58_p18_f463989d
date 25.09.2024 11:01:35
organism hsapiens

g:Profiler

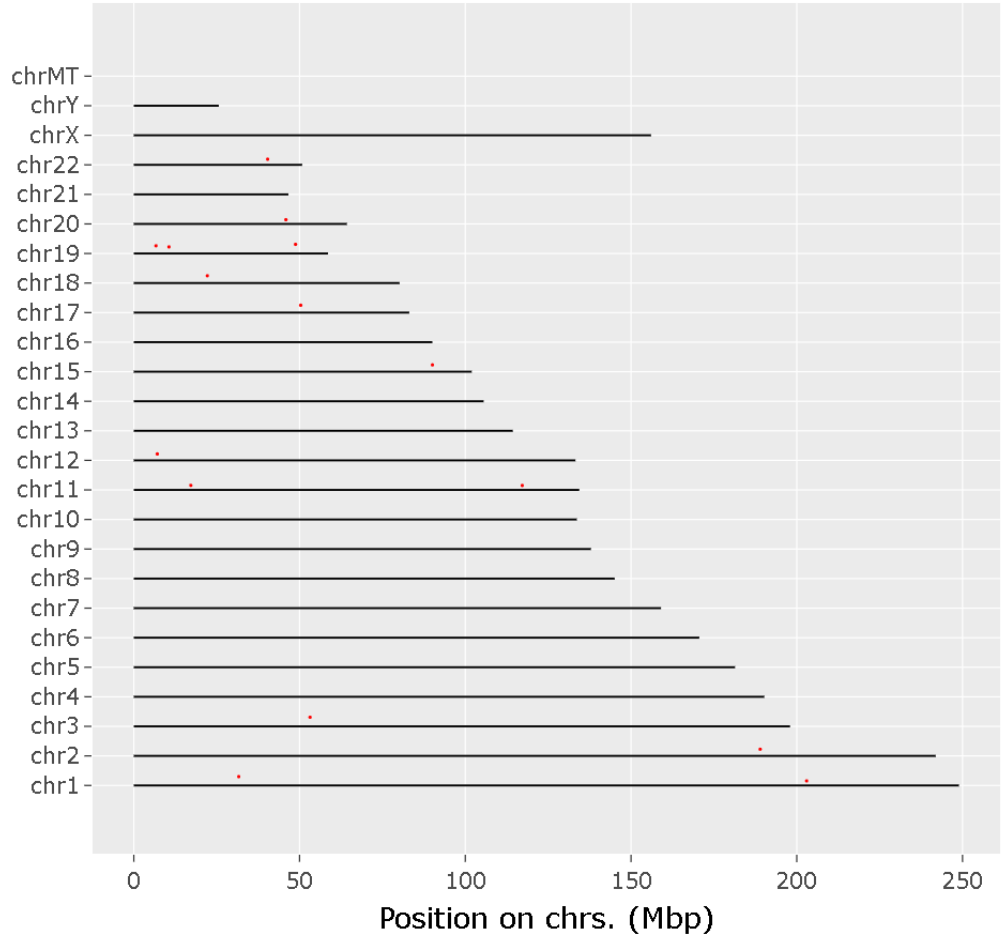
Şekil 4.62. Kolorektal kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin gProfiler g:GOST fonksiyonel profillemesi grafiği

Kolorektal kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca tümör grubunda kontrol grubuna göre yukarı yönlü intron tutulumu belirlenen genlerin gProfiler analiz sonuçları Şekil 4.62’de bildirilmiştir.

4.17.Mide Kanseri Örneklerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarıncı Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin ShinyGO v0.80 Analiz Sonuçları



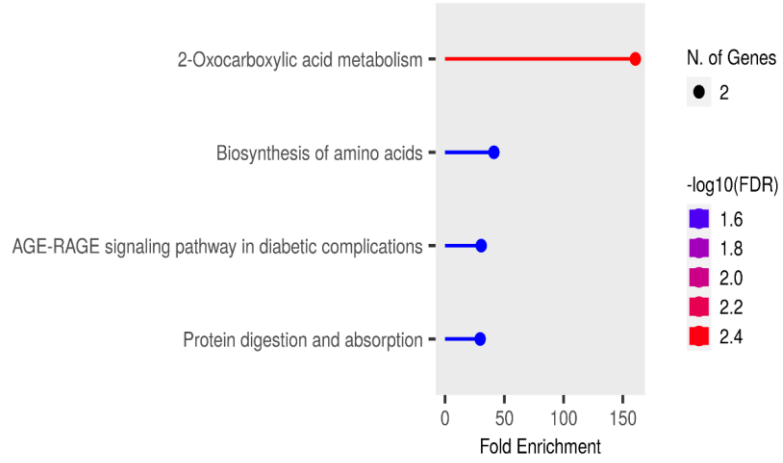
Şekil 4.63. Mide kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarıncı intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin özelliklerine ait grafikler



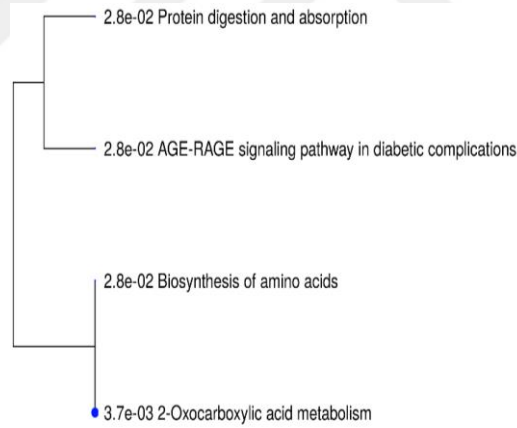
Şekil 4.64. Mide kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin Genom üzerinde bulunduğu yerler (kırmızı ile belirtilenler)

Mide kanseri örneklerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının tümör grubunda kontrol grubuna göre yukarı yönlü intron tutulumu belirlenen genlerin shinygo v0.80 analiz sonuçları Şekil 4.64’de bildirilmiştir.

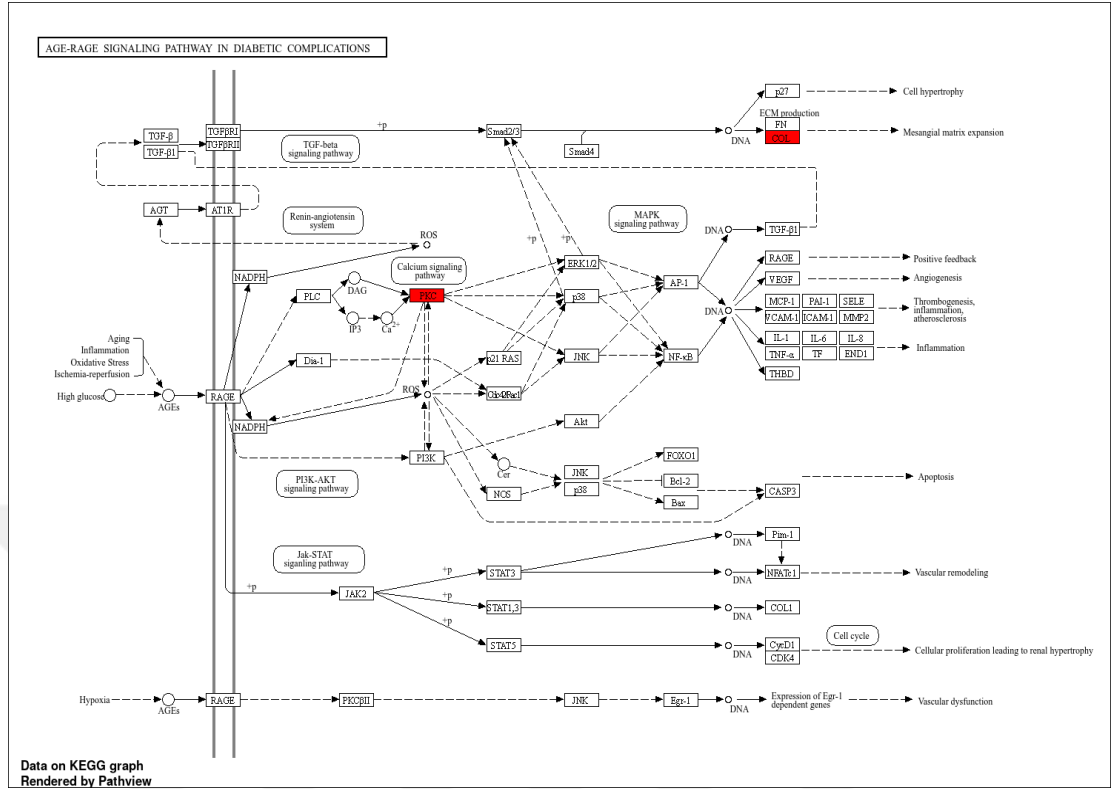
4.18.Mide Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin KEGG Yolak Analiz Sonuçları



Şekil 4.65. Mide kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin KEGG bar grafiği



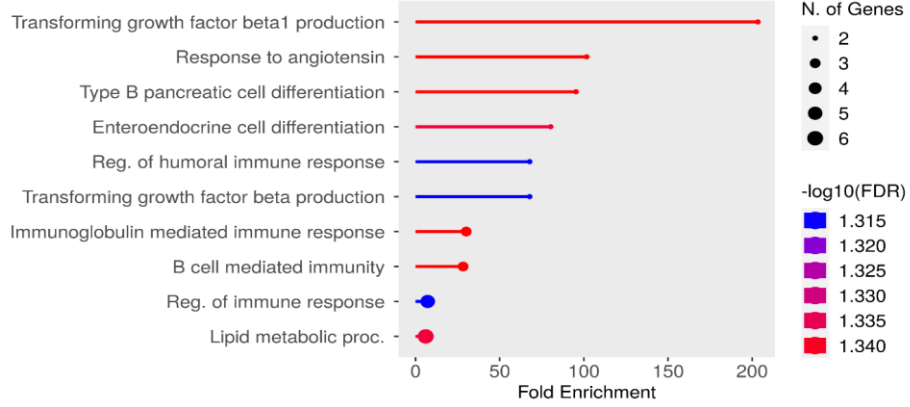
Şekil 4.66. Mide kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin KEGG ağaç grafiği



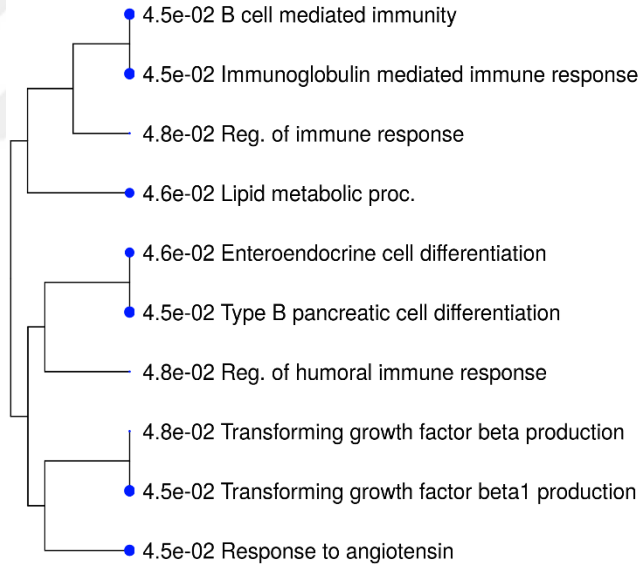
Şekil 4.69. Mide kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin “Diyabetik komplikasyonlarda AGE-RAGE sinyal yolu” grafiği

Mide kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının tümör grubunda kontrol grubuna göre yukarı yönlü intron tutulumu belirlenen genlerin KEGG yolak analiz sonuçları bar grafiği Şekil 4.65’de, ağaç grafiği Şekil 4.66’da, ağ grafiği Şekil 4.67’de, KEGG – Protein Sindirimi ve Emilimi grafiği Şekil 4.68’de, Diyabetik komplikasyonlarda AGE-RAGE sinyal yolu grafiği Şekil 4.69’da bildirilmiştir.

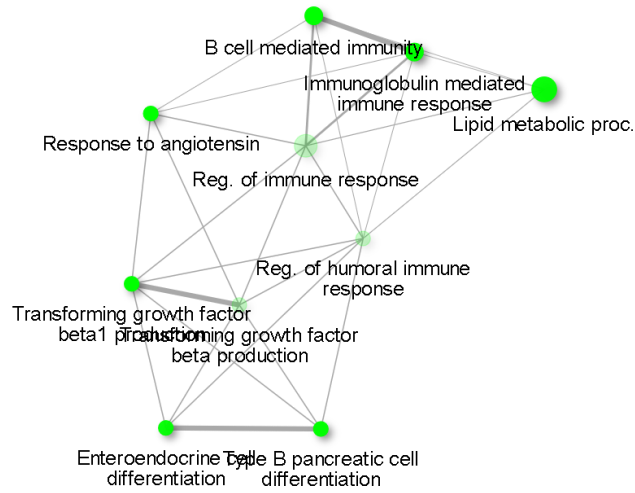
4.19.Mide Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin GO Biyolojik İşleyiş Yolak Analiz Sonuçları



Şekil 4.70. Mide kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Biyolojik İşleyiş bar grafiği



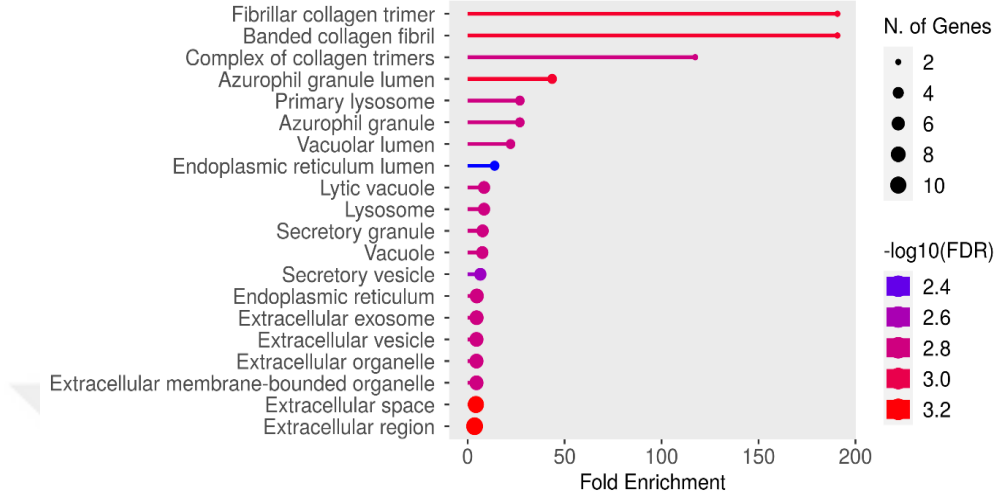
Şekil 4.71. Mide kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Biyolojik İşleyiş ağaç grafiği



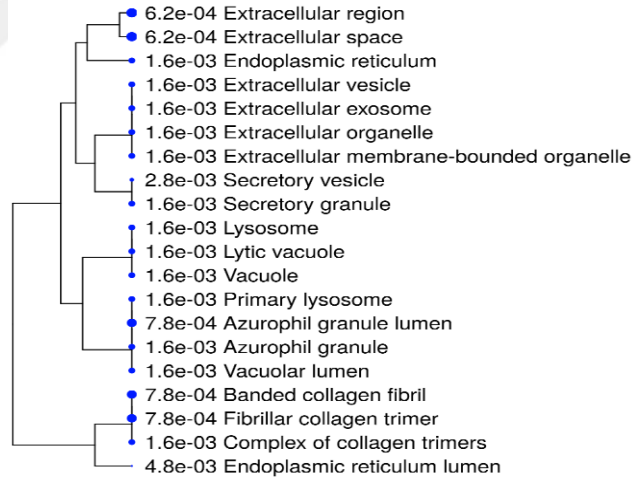
Şekil 4.72. Mide kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Biyolojik İşleyiş ağ grafiği

Mide kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca tümör grubunda kontrol grubuna göre yukarı yönlü intron tutulumu belirlenen genlerin GO biyolojik işleyiş yolak analiz sonuçları bar grafiği Şekil 4.70’de, ağaç grafiği Şekil 4.71’de, ağ grafiği Şekil 4.72’de bildirilmiştir.

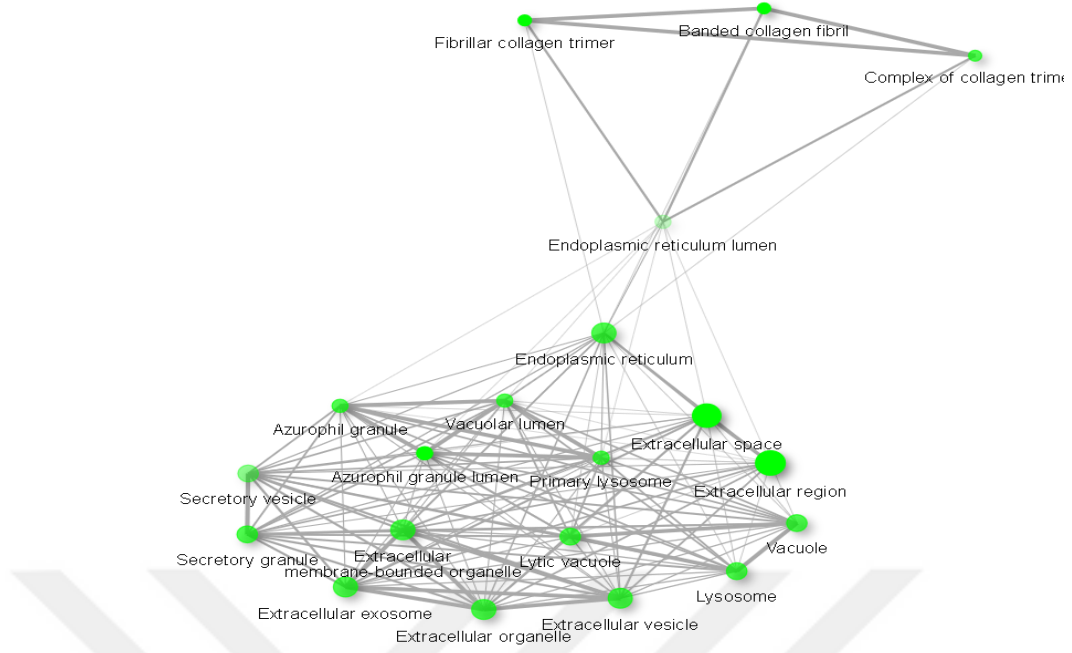
4.20. Mide Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin GO Hücresel İçerik Yolak Analiz Sonuçları



Şekil 4.73. Mide kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin Hücresel İçerik bar grafiği



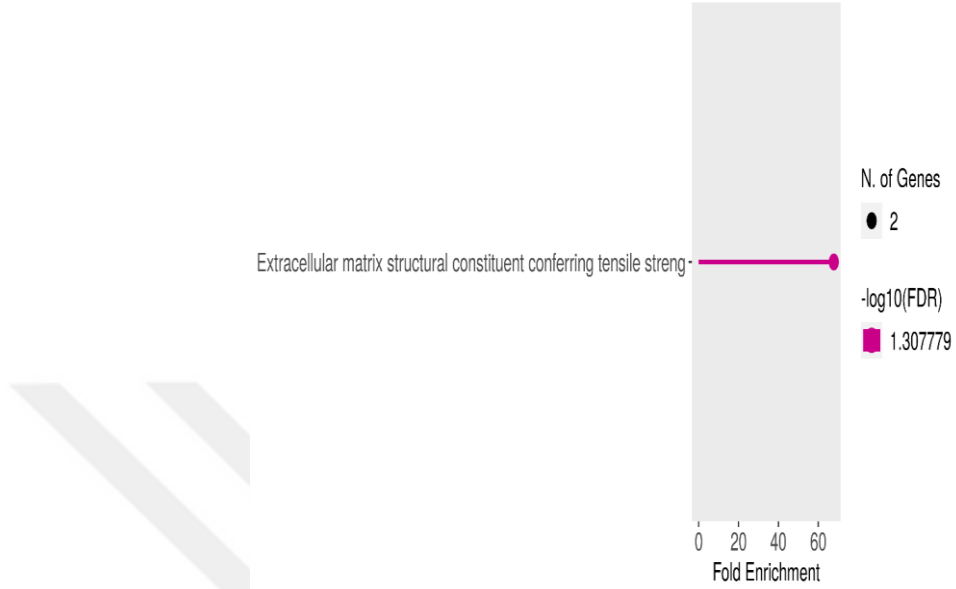
Şekil 4.74. Mide kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin Hücresel İçerik treerplot grafiği



Şekil 4.75. Mide kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel İçerik ağ grafiği

Mide kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca tümör grubunda kontrol grubuna göre yukarı yönlü intron tutulumu belirlenen genlerin GO hücresel içerik yolak analiz sonuçları bar grafiği Şekil 4.73’de, ağaç grafiği Şekil 4.74’te, ağ grafiği Şekil 4.75’te bildirilmiştir.

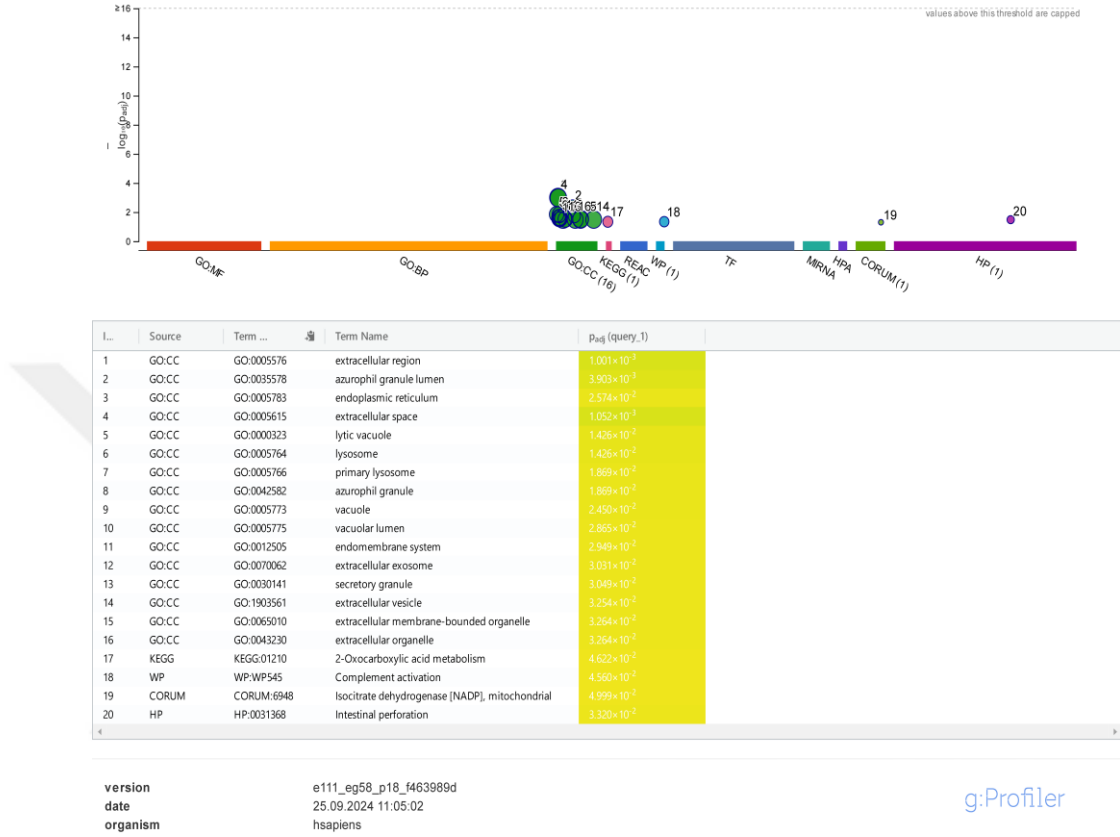
4.21. Mide Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin GO Moleküler Fonksiyon Yolak Analiz Sonuçları



Şekil 4.76. Mide kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Moleküler Fonksiyon bar grafiği

Mide kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca tümör grubunda kontrol grubuna göre yukarı yönlü intron tutulumu belirlenen genlerin GO moleküler fonksiyon yolak analiz sonuçları bar grafiği Şekil 4.76’da bildirilmiştir.

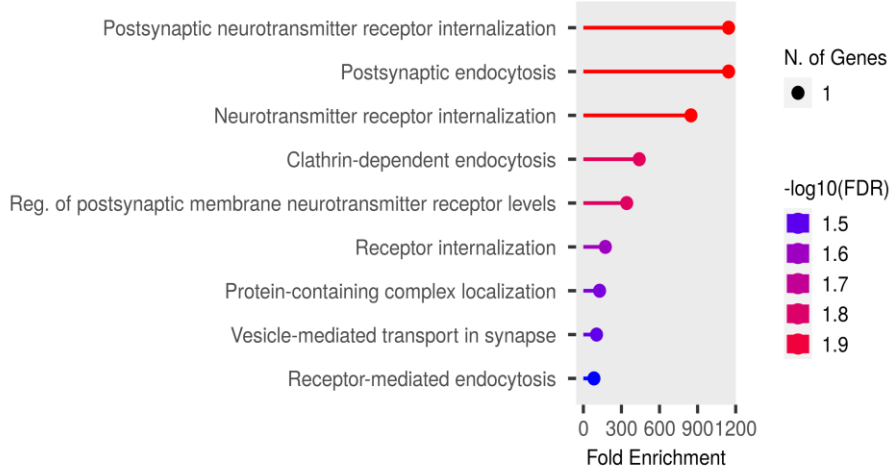
4.22.Mide Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarının Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin gProfiler Analiz Sonuçları



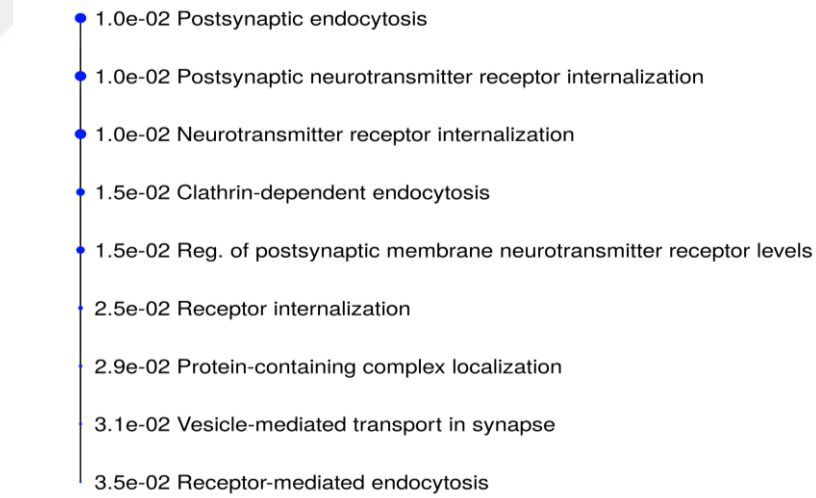
Şekil 4.77. Mide Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarının Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin gProfiler Analiz Sonuçları

Mide kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının tümör grubunda kontrol grubuna göre yukarı yönlü intron tutulumu belirlenen genlerin gProfiler analiz sonuçları Şekil 4.77’de bildirilmiştir.

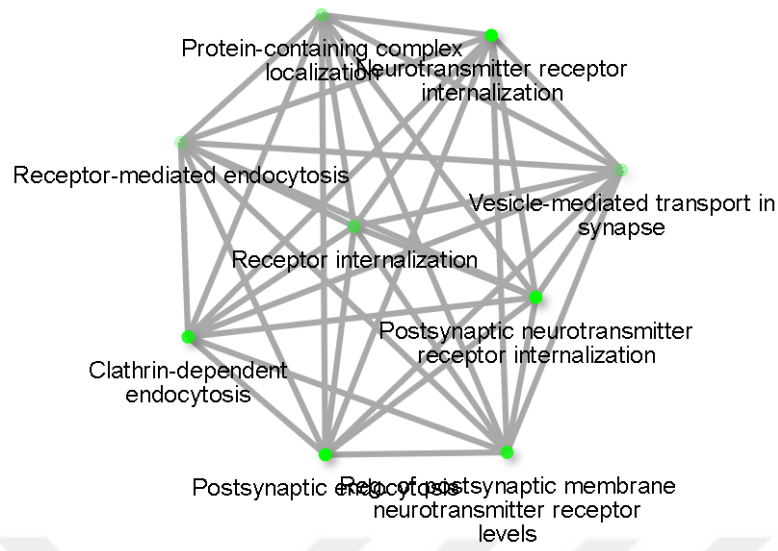
4.23. Akciğer Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin GO Hücresel İşleyiş Yolak Analiz Sonuçları



Şekil 4.78. Akciğer kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel işleyiş bar grafiği



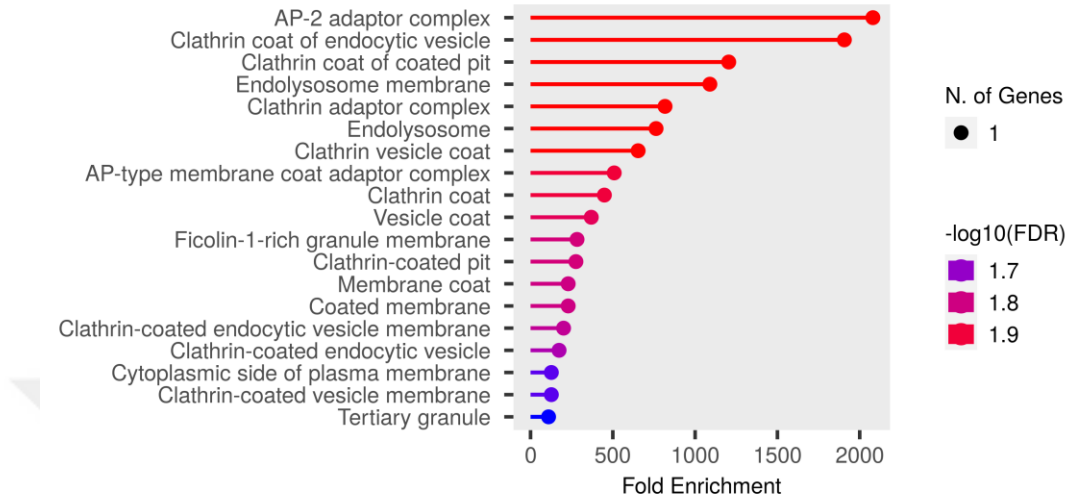
Şekil 4.79. Akciğer kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel işleyiş ağaç grafiği



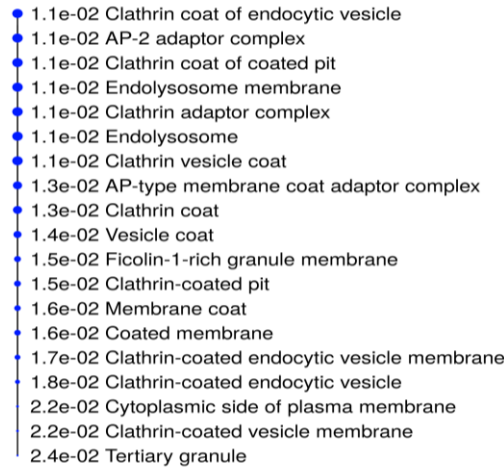
Şekil 4.80. Akciğer kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel işleyiş ağ grafiği

Akciğer kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının tümör grubunda kontrol grubuna göre yukarı yönlü intron tutulumu belirlenen genlerin GO hücresel işleyiş yolak analiz sonuçları bar grafiği Şekil 4.78’de, ağaç grafiği Şekil 4.79’da, ağ grafiği Şekil 4.80’de bildirilmiştir.

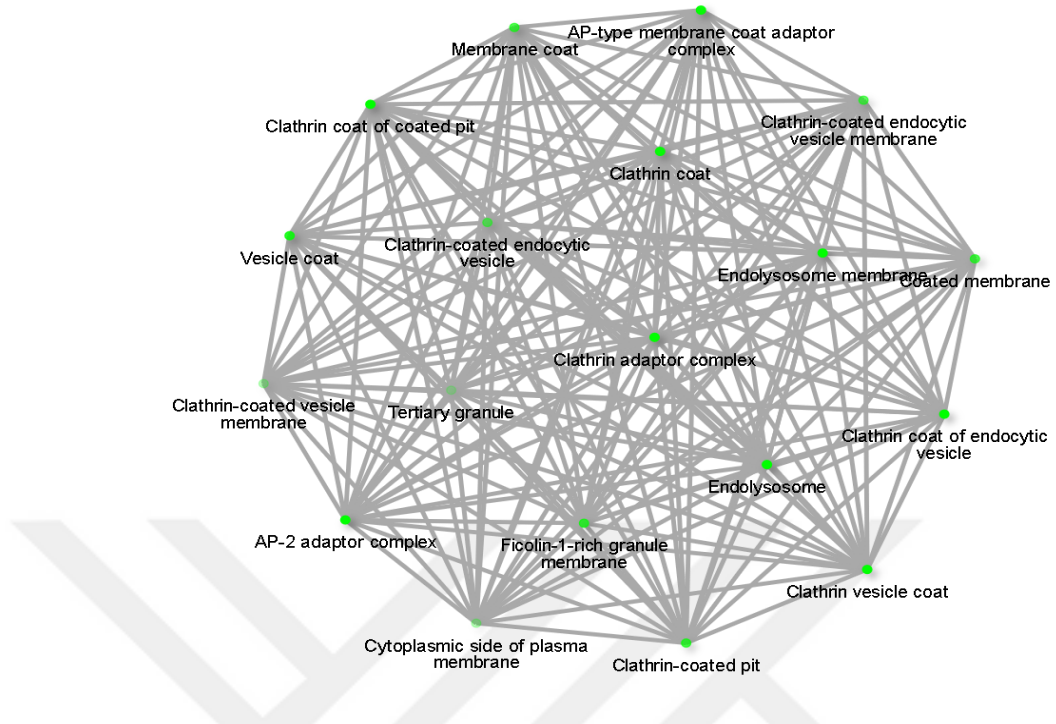
4.24. Akciğer Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin GO Hücresel İçerik Yolak Analiz Sonuçları



Şekil 4.81. Akciğer kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel içerik bar grafiği



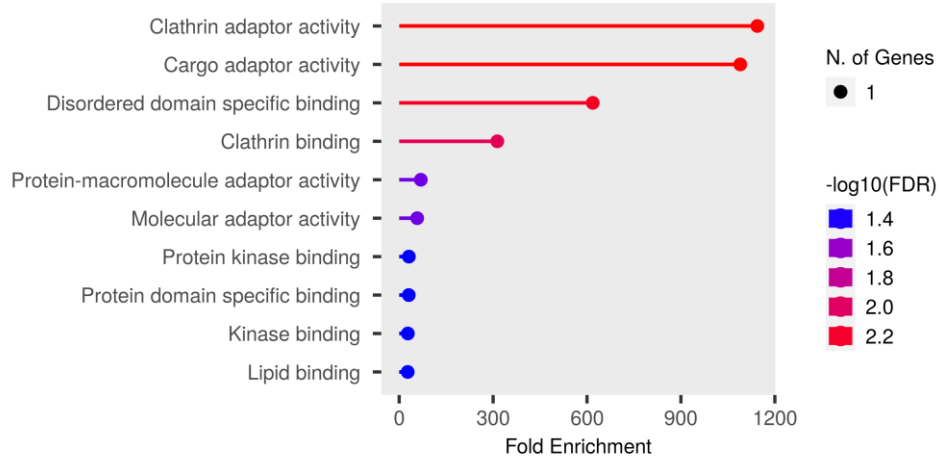
Şekil 4.82. Akciğer kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel içerik ağaç grafiği



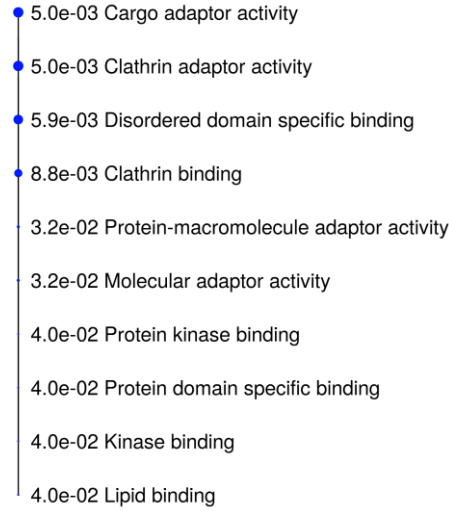
Şekil 4.83. Akciğer kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel içerik ağ grafiği

Akciğer kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca tümör grubunda kontrol grubuna göre yukarı yönlü intron tutulumu belirlenen genlerin GO hücresel içerik yolak analiz sonuçları bar grafiği Şekil 4.81’de, ağaç grafiği Şekil 4.82’de, ağ grafiği Şekil 4.83’te bildirilmiştir.

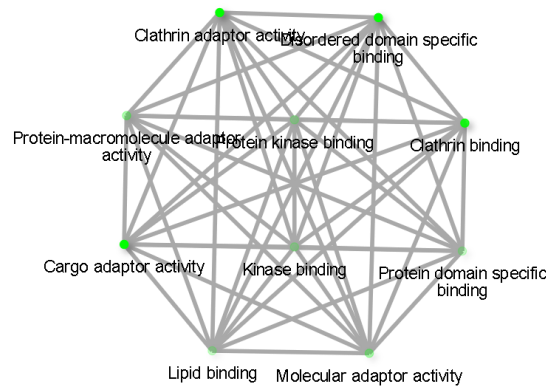
4.25. Akciğer Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarının Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin GO Moleküler Fonksiyon Yolak Analiz Sonuçları



Şekil 4.84. Akciğer kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Moleküler fonksiyon bar grafiği



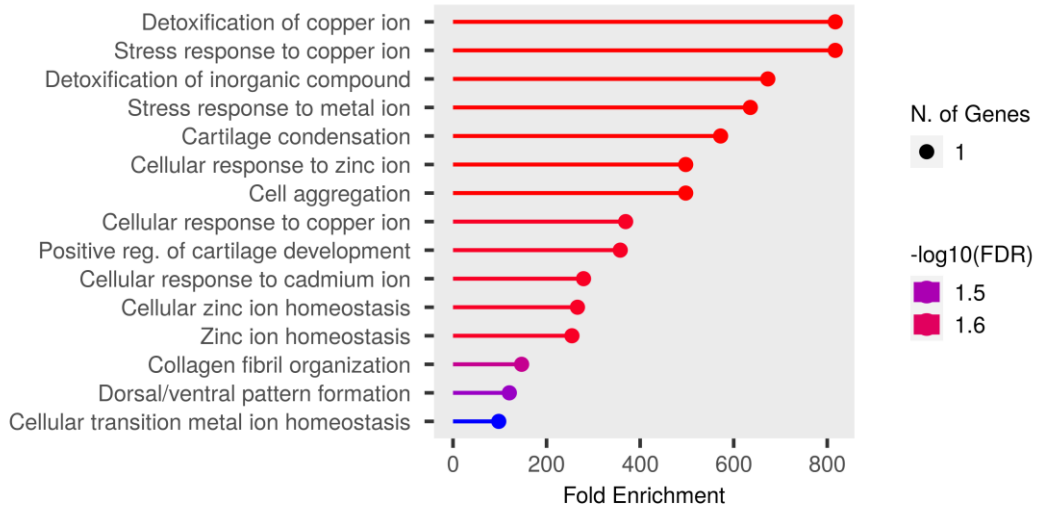
Şekil 4.85. Akciğer kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Moleküler fonksiyon ağaç grafiği



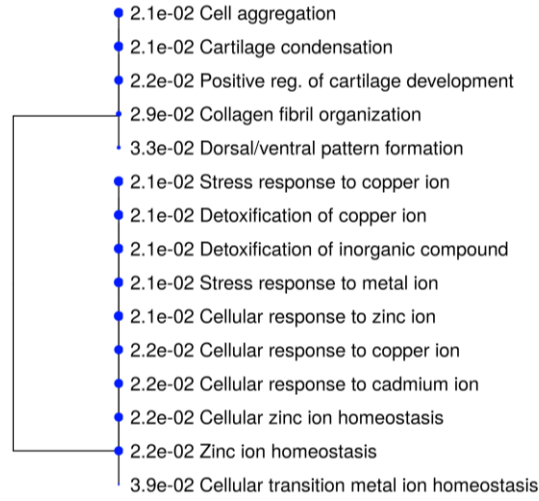
Şekil 4.86. Akciğer kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenen genlerin GO Moleküler fonksiyon ağ grafiği

Akciğer kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının tümör grubunda kontrol grubuna göre yukarı yönlü intron tutulumu belirlenen genlerin GO moleküler fonksiyon yolak analiz sonuçları bar grafiği Şekil 4.84'te, ağaç grafiği Şekil 4.85'de, ağ grafiği Şekil 4.86'da bildirilmiştir.

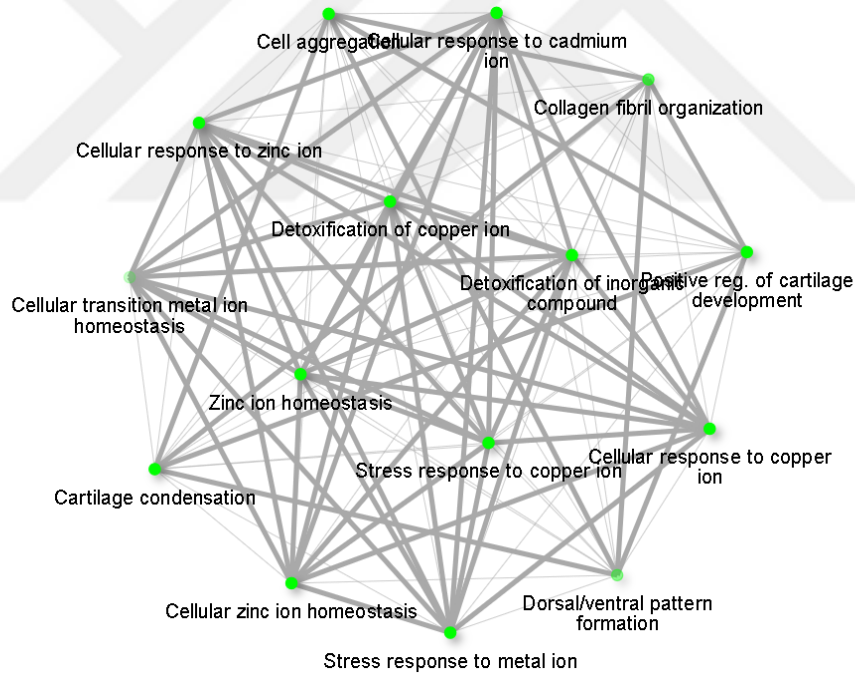
4.26. Akciğer Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarının Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Aşağı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin GO Hücresel İşleyiş Yolak Analiz Sonuçları



Şekil 4.87. Akciğer kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel işleyiş bar grafiği



Şekil 4.88. Akciğer kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel işleyiş ağaç grafiği

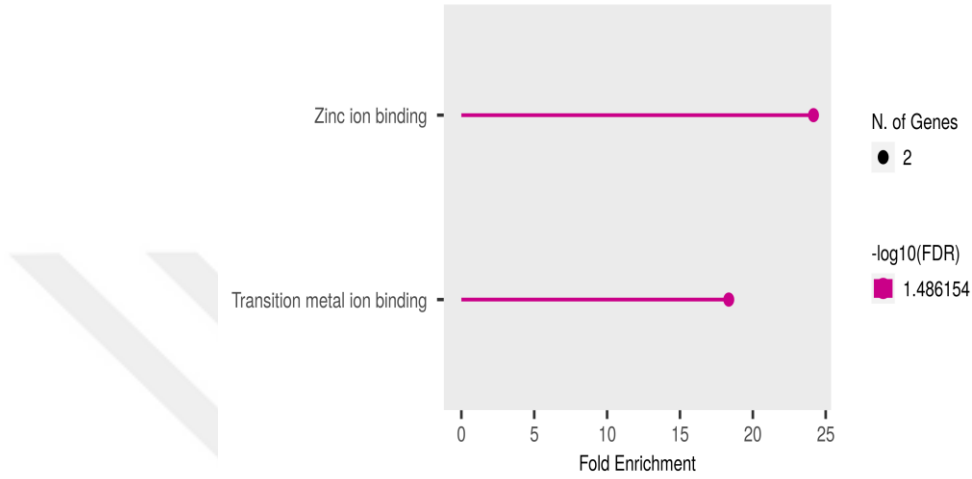


Şekil 4.89. Akciğer kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin GO Hücresel işleyiş ağ grafiği

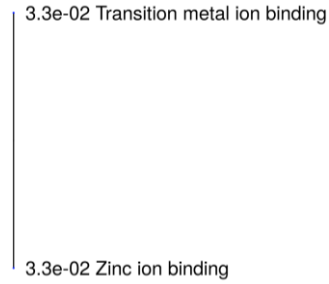
Akciğer kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca tümör grubunda kontrol grubuna göre aşağı yönlü intron tutulumu belirlenen genlerin GO

hücrel işleyiş yolak analiz sonuçları bar grafiği Şekil 4.87’de, ağaç grafiği Şekil 4.88’de, ağ grafiği Şekil 4.89’da bildirilmiştir.

4.27. Akciğer Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Aşağı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin GO Moleküler Fonksiyon Yolak Analiz Sonuçları



Şekil 4.90. Akciğer kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin GO Moleküler fonksiyon bar grafiği



Şekil 4.91. Akciğer kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin GO Moleküler fonksiyon bar grafiği

Akciğer kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca tümör grubunda kontrol grubuna göre yukarı yönlü intron tutulumu belirlenen genlerin GO moleküler fonksiyon yolak analiz sonuçları bar grafiği Şekil 4.90’da, ağaç grafiği Şekil 4.91’de bildirilmiştir.

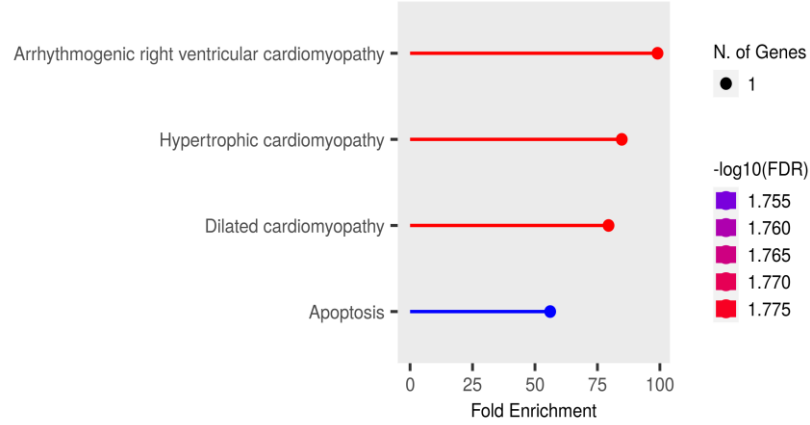
4.28. Akciğer Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarının Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin gProfiler Analiz Sonuçları



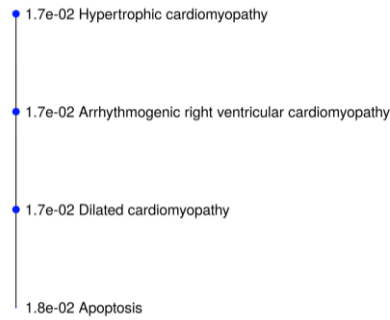
Şekil 4.92. Akciğer Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarının Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Yukarı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin gProfiler Analiz Sonuçları

Akciğer kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının tümör grubunda kontrol grubuna göre yukarı yönlü intron tutulumu belirlenen genlerin gProfiler analiz sonuçları Şekil 4.92’de bildirilmiştir.

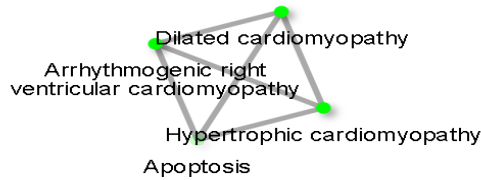
4.29.Prostat Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Aşağı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin KEGG Yolak Analiz Sonuçları



Şekil 4.93. Prostat kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin KEGG bar grafiği



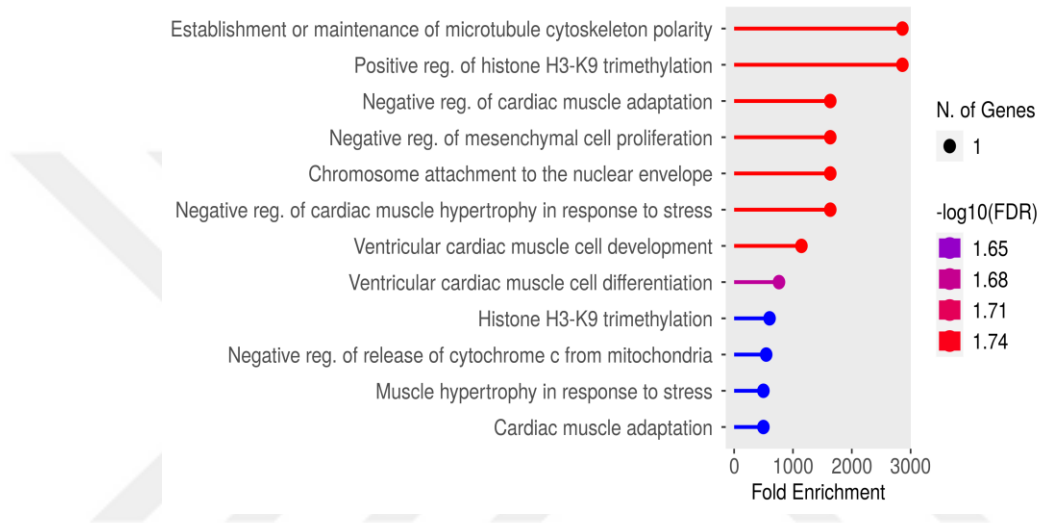
Şekil 4.94. Prostat kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin KEGG ağaç grafiği



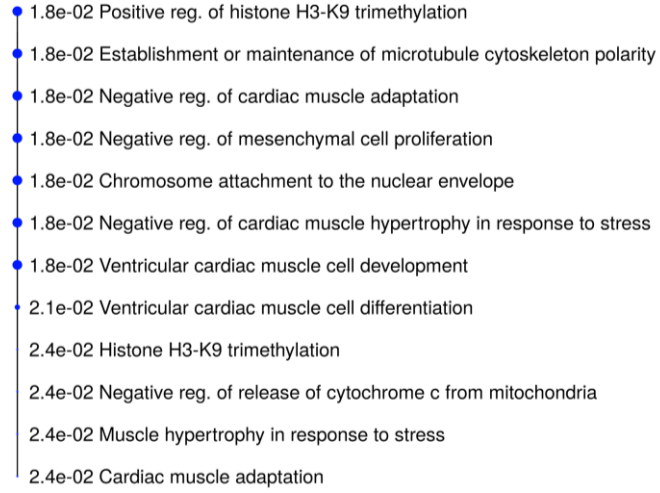
Şekil 4.95. Prostat kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin KEGG ağ grafiği.

Prostat kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca tümör grubunda kontrol grubuna göre aşağı yönlü intron tutulumu belirlenen genlerin KEGG yolak analiz sonuçları bar grafiği Şekil 4.93’de, ağaç grafiği Şekil 4.94’te, ağ grafiği Şekil 4.95’de bildirilmiştir.

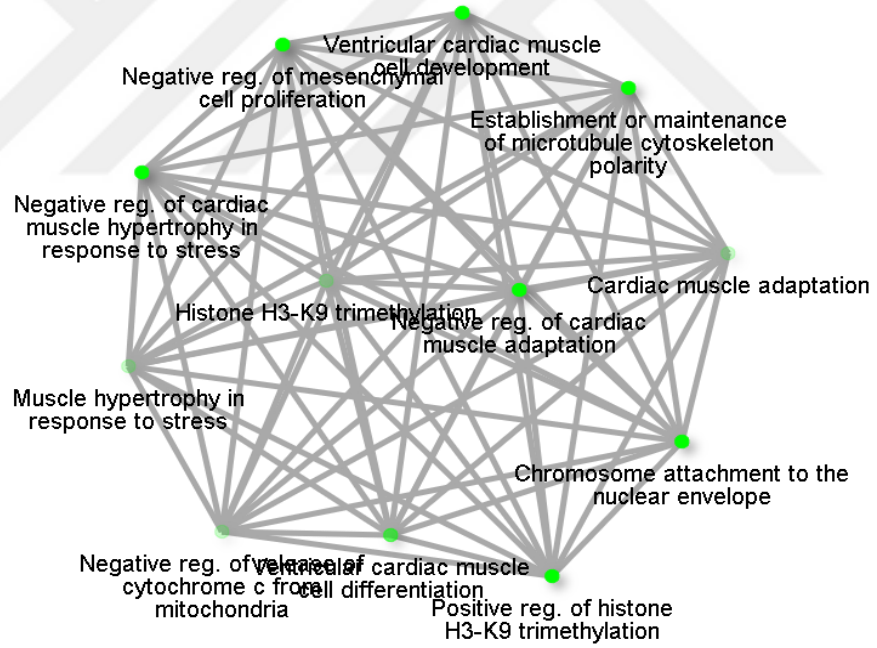
4.30. Prostat Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Aşağı Yönlü İtron Tutulumu Belirlenen Genlerin GO Biyolojik İşleyiş Yolak Analiz Sonuçları



Şekil 4.96. Prostat kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin GO Biyolojik işleyiş bar grafiği



Şekil 4.97. Prostat kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin GO biyolojik işleyiş ağaç grafiği

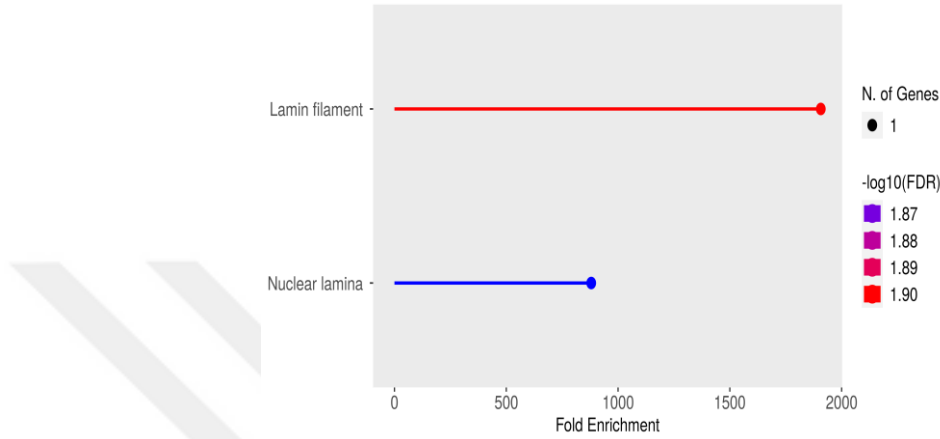


Şekil 4.98. Prostat kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin GO biyolojik işleyiş ağ grafiği

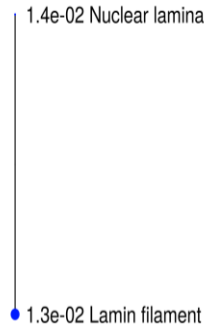
Prostat kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca tümör grubunda kontrol grubuna göre aşağı yönlü intron tutulumu belirlenen genlerin GO

biyolojik işleyiş yolak analiz sonuçları bar grafiği Şekil 4.96’da, ağaç grafiği Şekil 4.97’de, ağ grafiği ise Şekil 4.98’de bildirilmiştir.

4.31.Prostat Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarınca Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Aşağı Yönlü İntron Tutulumu Belirlenen Genlerin GO Hücresel İçerik Yolak Analiz Sonuçları



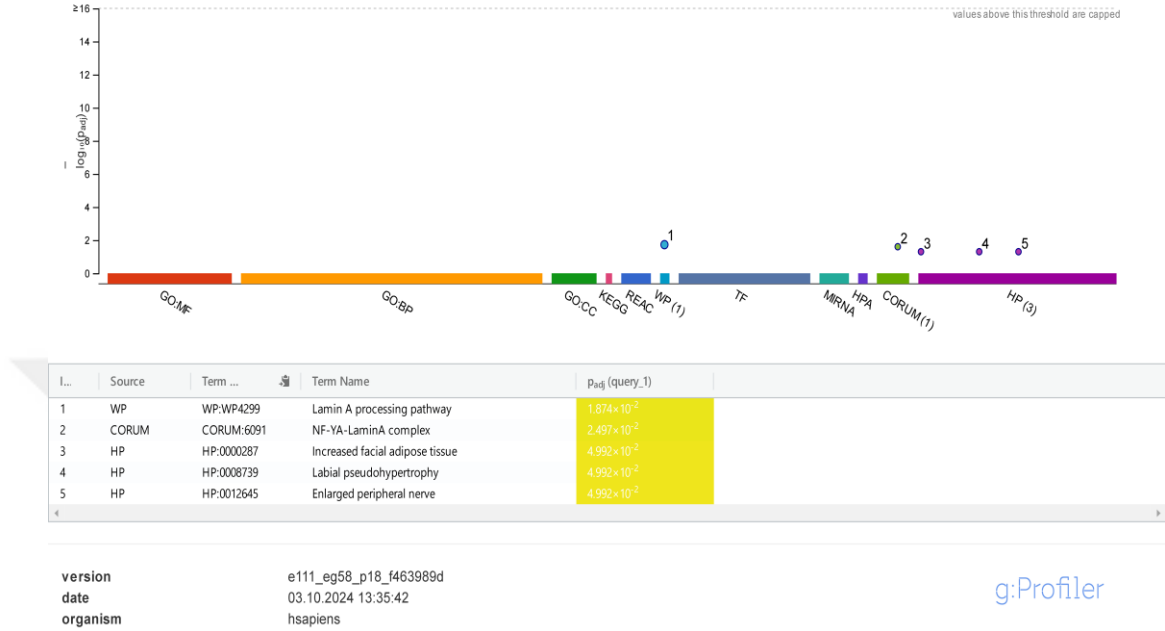
Şekil 4.99. Prostat kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin GO hücresel içerik bar grafiği.



Şekil 4.100. Prostat kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca intron tutulumunun tümör grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenen genlerin GO hücresel içerik ağaç grafiği

Prostat kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarınca tümör grubunda kontrol grubuna göre aşağı yönlü intron tutulumu belirlenen genlerin GO hücresel içerik yolak analiz sonuçları bar grafiği Şekil 4.99’da ve ağaç grafiği Şekil 4.100’de bildirilmiştir.

4.32.Prostat Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarının Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Aşağı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin gProfiler Analiz Sonuçları



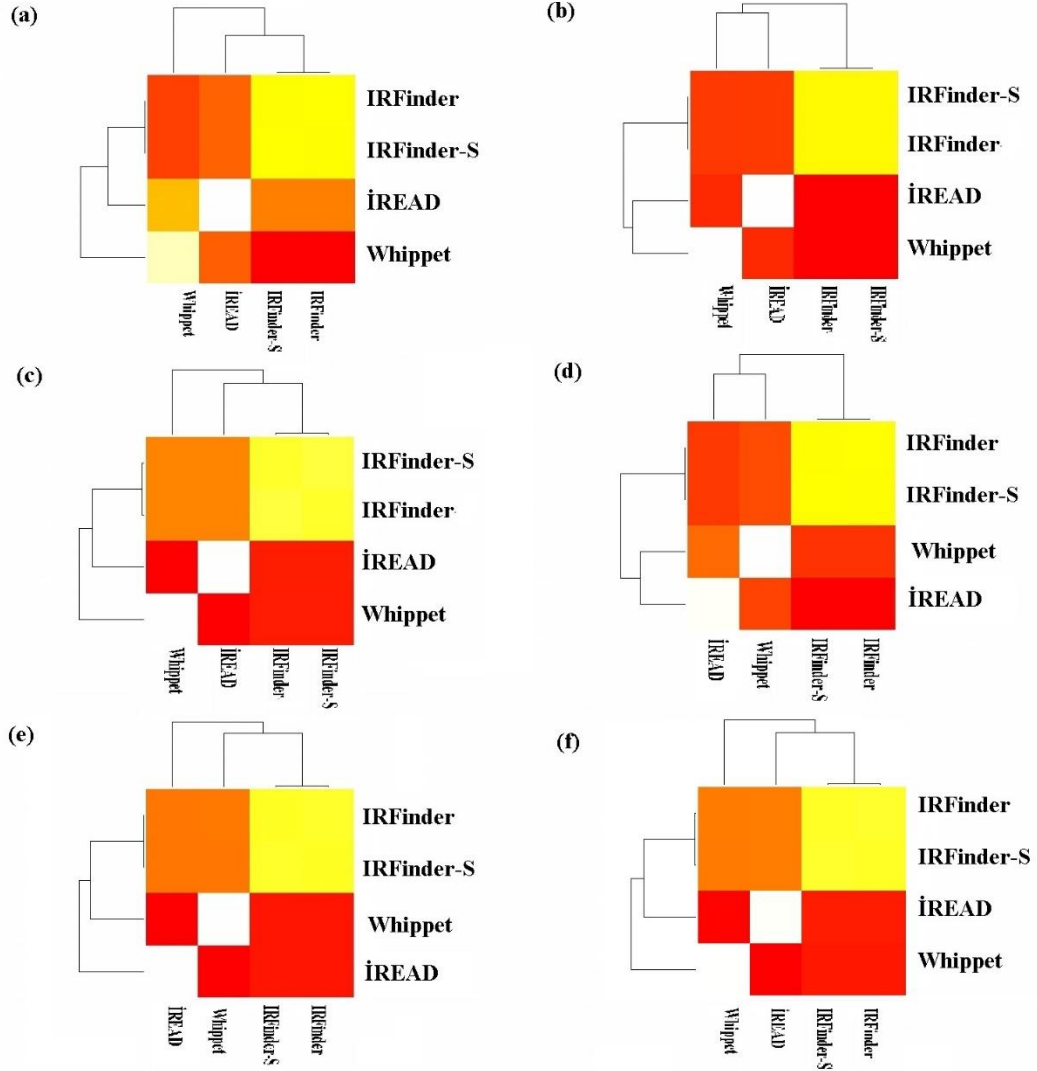
Şekil 4.101. Prostat Kanseri Verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD Algoritmalarının Tümör Grubunda Kontrol Grubuna Göre Aşağı Yönlü Intron Tutulumu Belirlenen Genlerin gProfiler Analiz Sonuçları

Prostat kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının tümör grubunda kontrol grubuna göre aşağı yönlü intron tutulumu belirlenen genlerin gProfiler analiz sonuçları Şekil 4.101’de bildirilmiştir.

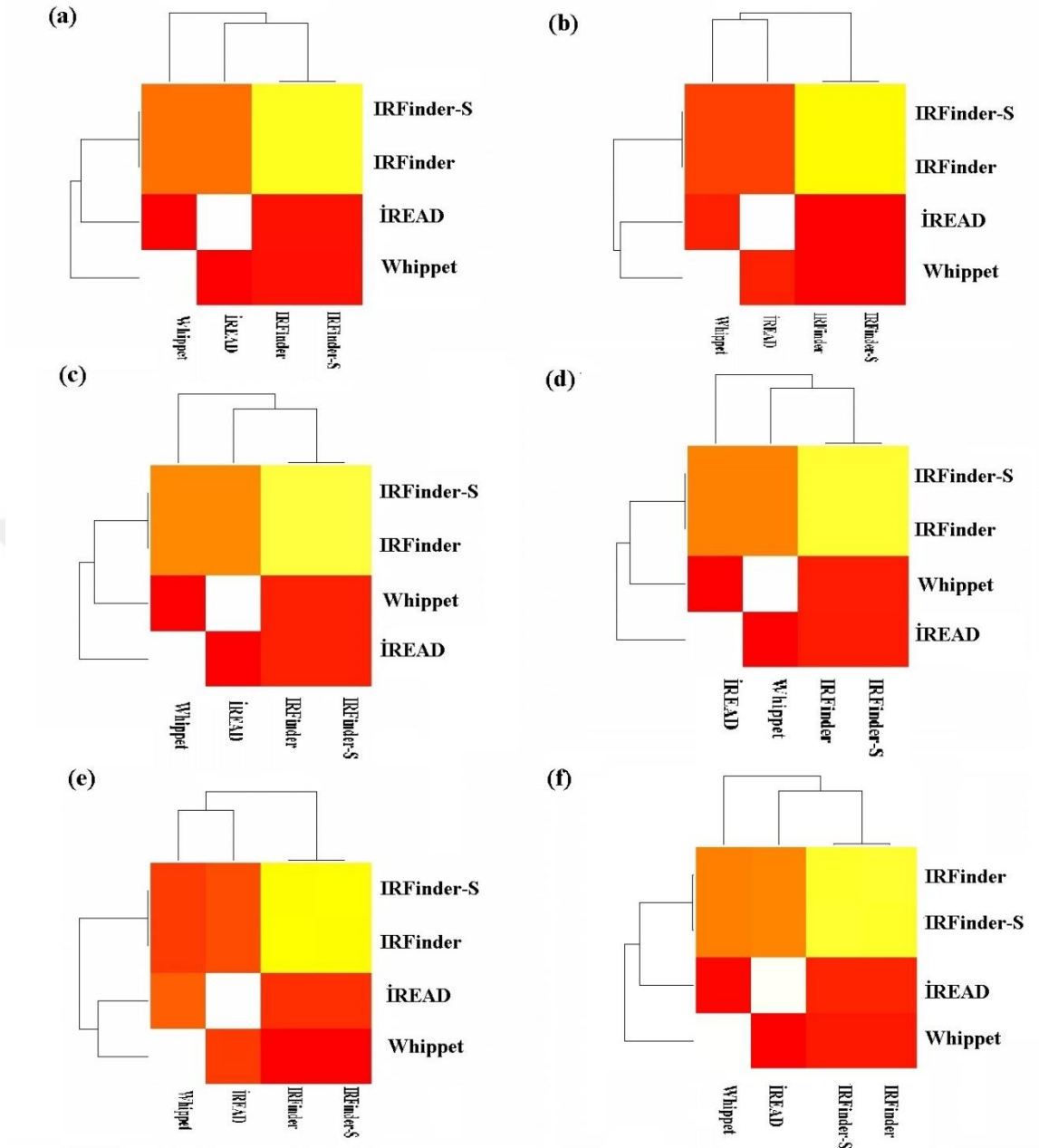
Bu çalışma kapsamında IRFinder, IRFinder-S, İREAD, Whippet isimli dört farklı intron tutulumu belirlenen algoritma ile altı farklı kanser türüne ait 246 tümör 259 kontrol dokusuna ait kısa eşleştirilmiş okumalı RNA-seq verileri analiz edilmiştir. Analiz sonuçları her algoritmada bildirilen kesim noktalarına göre istatistiksel açıdan anlamlı bulunan gen bölgeleri (kromozom sayısı: başlangıç - bitiş sayıları) olarak belirlenmiştir. Buna göre; incelenen dört algoritmadan IRFinder, IRFinder-S ve İREAD algoritmalarının ortak olarak kesiştiği gen bölgeleri ve bu bölgelere ait genler Meme kanseri yukarı ve aşağı yönlü intron tutulumu içeren gen bölgeleri, Kolorektal kanser yukarı yönlü, Mide yukarı yönlü, Akciğer yukarı ve aşağı yönlü, Prostat aşağı ve yukarı gen bölgeleri olarak belirlenmiştir. Akciğer aşağı yönlü intron tutulumu belirlenen

genler dışında yukarıda bildirilen gen bölgelerine ait ShinyGo ve gProfiler grafikleri elde edilmiştir. Servikal kanser verilerinde ise algoritmalar arasında kesişmiş gen bölgesi belirlenememiştir.

4.33.Algoritmalar arası Cohen Kappa Analiz sonuçları



Şekil 4.102. Tüm algoritmalarda intron tutulumu yüksek ortak bulunan gen bölgelerinin Cohen Kappa değeri ısı haritaları. a) meme, b) servikal, c) kolorektal, d) mide, e) akciğer, f) prostat



Şekil 4.103. Tüm algoritmelerde intron tutulumu düşük ortak bulunan gen bölgelerinin Cohen Kappa değeri ısı haritaları. a) meme, b) servikal, c) kolorektal, d) mide, e) akciğer, f) prostat

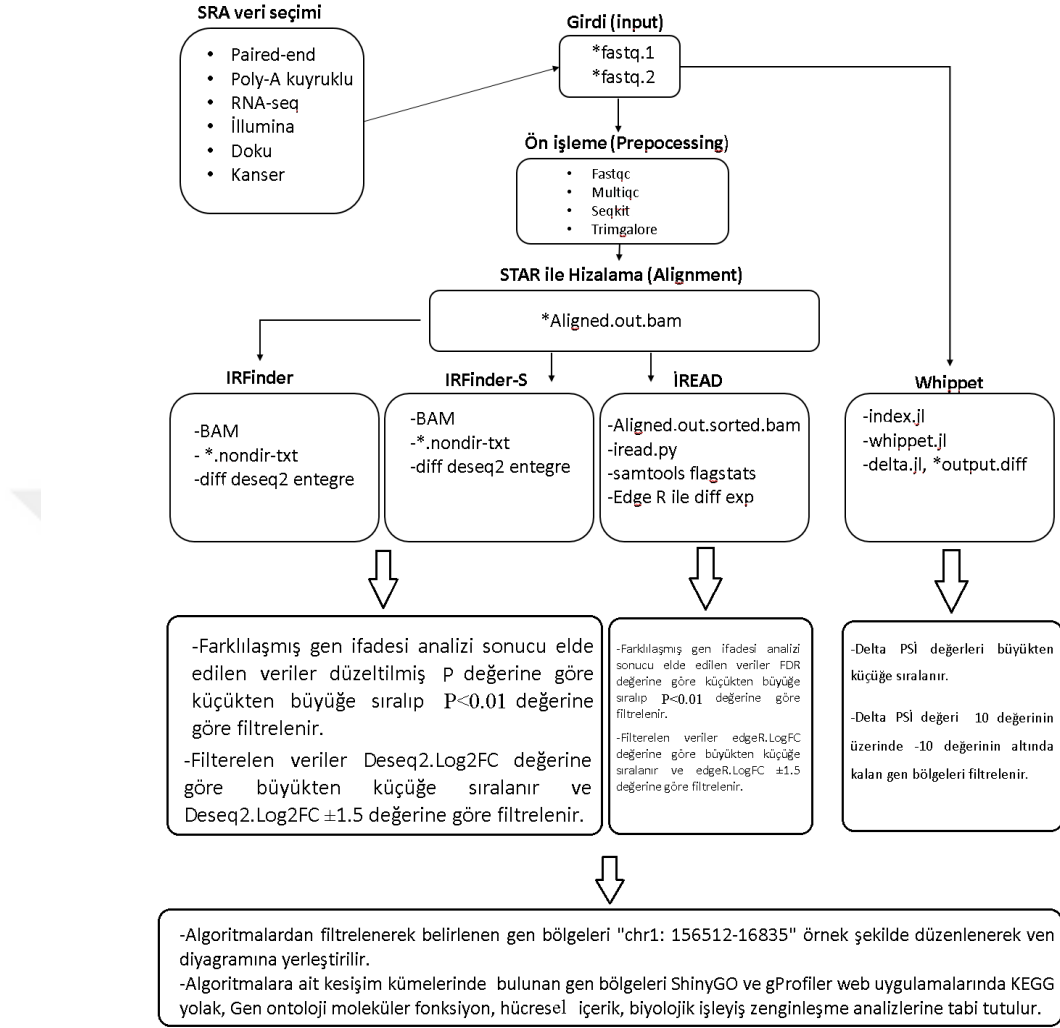
Tablo 4.4. Tüm algoritmaların ikili Cohen Kappa analiz sonuçları.

İntron Tutulumu yönü	Kanser Türü	Algoritma	IRFinder	IRFinder-S	İREAD	Whippet
Yukarı Yönlü	Meme	IRFinder	1.00	0.99	0.01	-0.99
		IRFinder-S	0.99	1.00	0.01	-0.99
		İREAD	0.01	0.01	1.00	-0.01
		Whippet	-0.99	-0.99	-0.01	1.00
	Servikal	IRFinder	1.00	1.00	-0.01	-0.01
		IRFinder-S	1.00	1.00	-0.01	-0.01
		İREAD	-0.01	-0.01	1.00	-0.07
		Whippet	-0.01	-0.01	-0.07	1.00
	Kolorektal	IRFinder	1.00	0.97	-0.01	-0.02
		IRFinder-S	0.97	1.00	-0.01	-0.02
		İREAD	-0.01	-0.01	1.00	-0.66
		Whippet	-0.02	-0.02	-0.66	1.00
	Mide	IRFinder	1.00	0.99	-0.64	-0.31
		IRFinder-S	0.99	1.00	-0.64	-0.31
		İREAD	-0.64	-0.64	1.00	-0.35
		Whippet	-0.31	-0.31	-0.35	1.00
	Akciğer	IRFinder	1.00	0.99	-0.10	-0.10
		IRFinder-S	0.99	1.00	-0.10	-0.10
		İREAD	-0.10	-0.10	1.00	-0.70
		Whippet	-0.10	-0.10	-0.70	1.00
	Prostat	IRFinder	1.00	1.00	-0.02	-0.02
		IRFinder-S	0.99	1.00	-0.02	-0.02
		İREAD	-0.02	-0.02	1.00	-0.84
		Whippet	-0.02	-0.02	-0.84	1.00
Aşağı Yönlü	Meme	IRFinder	1.00	1.00	-0.02	-0.03
		IRFinder-S	1.00	1.00	-0.02	-0.03
		İREAD	-0.02	-0.02	1.00	-0.14
		Whippet	-0.03	-0.03	-0.14	1.00
	Servikal	IRFinder	1.00	1.00	-0.02	-0.03
		IRFinder-S	1.00	1.00	-0.02	-0.03
		İREAD	-0.02	-0.02	1.00	-0.14
		Whippet	-0.03	-0.03	-0.14	1.00
	Kolorektal	IRFinder	1.00	1.00	0.00	0.00
		IRFinder-S	1.00	1.00	0.00	0.00
		İREAD	0.00	0.00	1.00	-0.69
		Whippet	0.00	0.00	-0.69	1.00
	Mide	IRFinder	1.00	1.00	0.00	0.00
		IRFinder-S	1.00	1.00	0.00	0.00
		İREAD	0.00	0.00	1.00	-0.69
		Whippet	0.00	0.00	-0.69	1.00

Akciğer	IRFinder	1.00	0.99	-0.30	-0.59
	IRFinder-S	0.99	1.00	-0.30	-0.59
	İREAD	-0.30	-0.30	1.00	-0.39
	Whippet	-0.59	-0.59	-0.39	1.00
Prostat	IRFinder	1.00	1.00	-0.00	-0.03
	IRFinder-S	0.98	1.00	-0.00	-0.03
	İREAD	-0.00	-0.00	1.00	-0.83
	Whippet	-0.03	-0.03	-0.836	1.00

Tüm algoritmalara ait kesişim kümelerine ilişkin Cohen Kappa analiz sonuçları ikili olarak aşağı ve yukarı yönlü intron tutulumlarında Şekil 4.102 ve Şekil 4.103’de bildirilmiştir. Ayrıca sonuçlar Tablo 4.4’te bildirilmiştir.

4.34.Algoritmalarla İlişkin İş Akış Diyagramı



Şekil 4.104. Çalışmadan elde edilen sonuçlar ve literatür bilgisine göre oluşturulan iş akış diyagramı

Tüm algoritmalarla ilişkin veri seçiminden başlayarak algoritmalarda farklılıklar içeren girdi ve çıktılar iş akış diyagramı olan Şekil 4.104'te bildirilmiştir. Kullanıcılar için gruplar arası gen ifadesinin her algoritmaya özgü kesim noktasının belirlendiği açıklamalar ve sonrasında uygulanan ShinyGo, gProfiler yolak analizlerine ilişkin yönergeler de Şekil 4.104'te bildirilmiştir.

5.TARTIŞMA

Bildirilen beş farklı alternatif kırılma türünden biri olan intron tutulumu (Wu ve ark., 2023), gen ifadesi düzenlemesi ve karmaşık hastalıklarla bilinen ilişkisi nedeniyle son yıllarda giderek daha fazla ilgi görmektedir. Intron tutulumu ölçümü tıpkı alternatif kırılma çeşitlerinin belirlenmesi gibi gen veya genom düzeyinde ölçülebilir (Zheng ve ark., 2022). Bu hususta IR tespit yöntemlerinin geliştirilmesine sürekli çaba harcanmıştır. Bu yöntemler, tutulma eğilimini ölçme ölçütleri, IR olaylarını tespit etme performansı, tespit edilen IR'lerin işlevsel zenginleştirilmesi ve hesaplama hızı bakımından farklılık göstermektedir (Zheng ve ark., 2022). Intron tutulumunun belirlenmesinde çeşitlik istatistiksel hesaplamalı stratejilerle MATS (Shen ve ark., 2012), ExpressionPlot (Friedman ve Maniatis, 2011), Wang's Framework (Wang ve ark., 2012), IRFinder (Wong ve ark., 2013, Audic ve Claverie, 1997), BLAT (Kent, 2002; Grant ve ark., 2011) gibi birçok algoritmanın bahsedildiği Bai ve ark. (2015) tarafından tanımlanan çalışmalar incelenmiştir. Alternatif kırılmayı ve izoformları tespit etmeyi amaçlayan SUPPA (Alamancos ve ark., 2015), SUPPA2 (Trincado ve ark., 2018) rMATS (Shen ve ark., 2014), MISO (Katz ve ark., 2010), DEXseq (Anders ve ark., 2012) gibi algoritmalarda literatürde bildirilmiştir. Ayrıca son yıllarda bizim çalışmamızda incelediğimiz IRFinder (Middleton ve ark., 2017), Whippet (Sterne-Weiler ve ark., 2018), IRFinder-S (Lorenzi ve ark., 2021), iREAD (Li ve ark., 2020), gibi çalışmada incelenmeyen JUM (Wang ve Rio, 2018), KMA (Pimentel ve ark., 2015), IntERESt (Oghabian ve ark., 2018), MAJIQ (Vaquero-Garcia ve ark., 2016), PSI-sigma (Lin ve Krainer, 2019) gibi algoritmalar oluşturulmuştur. Çalışma süresince geliştirilen algoritmalarda ise bitkilerde alternatif kırılma modlarını tanımlayan ASTools (Qi ve ark., 2022), iREAD ve IRFinder sonuçları ile desteklenen DeepRetention (Wu ve ark., 2023) algoritmaları da geliştirilmiştir.

Bildirilen algoritmalarından ExpressionPlot'ın (Friedman ve Maniatis, 2011) düşük yoğunluklu intronları kestiği ve yalnızca okuma sayımlarını (intronlar/yan ekzonlar içinde) kullanarak IR olaylarını ölçmek için Fisher'ın exact testini veya Ki-kare testini benimsediği bildirilmiştir. MATS'ın (Shen ve ark., 2012) yalnızca okuma sayımlarını (kırılma bağlantılarını/intronlar içinde desteği) kullanarak, IR'nin tedavi ve kontrol koşulları arasındaki farkını değerlendirmek için Bayesci posterior olasılıklarını hesapladığı bildirilmiştir. Bunun yanı sıra, BLAT'ın (Kent, 2002; Grant ve ark., 2011) de novo haritalamaya dayalı bir analiz boru hattı kullanılarak (Wang ve ark., 2012), bir transkriptte bir intronun tam tutulmasını tespit ettiği bildirilmiştir. Ancak, BLAT'ın, gürültülere neden olacak okuma hizalaması için bazı düşük kaliteli okumalar kullandığı da (Grant ve ark., 2011) bildirilmiştir. Audic ve Claverie Testi'ni (Audic ve Claverie, 1997) benimseyerek tedavi ve kontrol koşulları arasındaki okuma kapsamı farkını tahmin etmek için oluşturulan IRFinder'ın ilk versiyonunun (Wong ve ark., 2013), intronlar içindeki okuma sayımlarını kullandığı bildirilmiştir (Bai ve ark., 2015).

İntron tutulumunun Wong ve ark. (2013) tarafından bildirilen IRFinder algoritmasında intron tutulumunun belirlenmesinde 3' ve 5' ekson intron bağlantılarındaki okumalar ve intron dizisi içindeki okumalar ilk kurgulanan algoritmalarda ele alındığı, fakat kurgulanan algoritmalarından MATS ve ExpressionPlot intronlar içindeki okuma dağılımı ve kapsamını dikkate alması, IRFinder'ın bu versiyonunda ise gen ekspresyon seviyelerini belirlemeyişi yanlış pozitif vaka tahmininin artırdığı sonucuna vardığı bildirilmiştir (Bai ve ark., 2015). Bu sebeple tedavi ve kontrol grupları arasında belirlenecek intron tutulumu olaylarının yanlış pozitifleri önlemek için 17 özellik kullanan J48 karar ağaçlarını ve random forest tabanlı makine öğrenimi tekniklerini kullanan IRclassifier ve IRscore formülünün oluşturulduğu 14 özellik kullanan sıralama (rank) stratejisi benimseyen IRcall ve gibi algoritmalar geliştirilmiştir (Bai ve ark., 2015). Pimentel ve ark. (2015) yanlış pozitif IR olayları olasılığını azaltmak için biyolojik tekrarları birleştiren, IR izoformlarının kantifikasyonunu gerçekleştirmek için bir yol sağlayan Keep Me Around (KMA) algortimasını geliştirmişleridir (Zheng ve ark., 2022). Middleton ve ark. (2017) Audic ve Claverie testi aracılığı ile deney ve kontrol grupları arasındaki okuma kapsamı farkını tahminlemek için intron okuma sayılarını kullanan bizim çalışmamızda test ettiğimiz IRFinder algoritmasını önermiştir.

Zheng ve ark. (2022) intron tutulumu metodlarını inceledikleri çalışmalarında intron tutulumunu direkt belirlemek için hedef alan çalışmamızda da incelemiş olduğumuz IRFinder ve iREAD algoritmalarının yanısıra MISO (Katz ve ark., 2010), rMATS (Shen ve ark., 2014), DEXSeq (Anders ve ark., 2012), CASH (Wu ve ark., 2018) gibi alternatif kırılma olaylarının içinde IR olaylarını tespit eden algortimaların analizi de gerçekleştirilmiştir. MISO'nun RNA-seq verilerinde AS genlerinde IR'nin ifade düzeylerini ve izoformlarını niceliksel olarak belirlediği güven aralıklarını sağladığı bildirilmiştir. Geliştirilmiş rMATS'ın (replicate MATS) tekrarlanan RNA-seq verilerinde farklı AS olaylarını tespit etmek için daha sağlam birer hiyerarşik model kullandığı bildirilmiştir (Zheng ve ark., 2022). DEXSeq'in (Anders ve ark., 2012; Li ve ark., 2015) farklı ekson kullanımından (Differential Exon Usage, DEU) etkilenen genleri tespit etmek için genelleştirilmiş doğrusal model (GLM) kullandığı bildirilmiştir. DEXSeq'in yanlış keşiflerin güvenilir birşekilde kontrol altına alınması için biyolojik çeşitliliği dikkate aldığı, ekson koordinatları değiştirilerek intron tutulumunu tespit etmek için de kullanılabileceği bildirilmiştir. Ancak bu dönüştürme yönteminin titiz olmadığı bazı IR'lerin kaybolmasına neden olabileceği bildirilmiştir (Zheng ve ark., 2022). Yine Kapsamlı alternatif kırılma Avı (Comprehensive Alternative Splicing Hunting, CASH) (Wu ve ark., 2018) CASH'in yeni AS olaylarını tespit etme yeteneğini önemli ölçüde artırdığı, yanlış pozitifleri azaltmak için SpliceDiff, AS dahil etme/dışlama olayı ifadesi testi ve tüm gen ifadesine göre AS ekzonlarının testi dahil olmak üzere iki istatistiksel testi birleştirdiği bildirilmiştir. (Zheng ve ark., 2022).

Çalışmamızda incelemiş olduğumuz Li ve ark. (2020) tarafından önerilen iREAD algoritmasının ana adımı ise herhangi bir izoformun herhangi bir ekzonuyla örtüşmeyen transkriptom açıklamasından bağımsız intronları elemektir. Girdi olarak BAM dosyalarını alarak okuma sayıları, bağlantı okumaları, milyon eşleşmiş parça başına ekzon modelinin kilobaz başına parçaları (FPKM) ve normalleştirilmiş entropi puanı gibi intron ölçümlerini hesapladığı bildirilmiştir (Zheng ve ark., 2022). İREAD'in avantajları arasında kullanıcıların analiz için bağımsız intron listesine bilinen IR'leri manuel olarak eklemeleri de bulunmaktadır. İREAD'ın prensibinin basit, doğrudan ve komutların özlü kullanımının ayrıca bir avantaj olduğu da bildirilmiştir (Zheng ve ark.,

2022). Zira çalışmamız esnasında kurulumu en hızlı gerçekleşen program İREAD olmuştur.

Zheng ve ark. (2022) intron tutulma eğilimi ölçme ölçütlerinin IR olaylarını tespit etme performansı, tespit edilen IR'lerin biyolojik süreçlerde zenginleştirilmesi ve hesaplanma hızları bakımından farklılık gösterdiği bildirmiştir. Sistematik bir deneysel karşılatırmayı mevcut yöntemlerin seçimi ve kullanımı açısından önemli bulmuştur. Bu hususta planladığı çalışmada intron tutulumunun altın standart bir veri kümesi olmamasından simülasyon verileri kullanarak IR tespit performansını karşılaştırmışlardır. Daha sonra IR tespit sonuçlarını gerçek RNA-seq verileri ile karşılaştırmışlardır. Bu hususta Alzheimer hastalığının RNA-seq veri setinde Gen ontolojisi zenginleştirme analizi ile farklılaşmış IR'leri karşılaştırmak için diferansiyel analiz yöntemlerinin kullanmıştır. Bu çalışmada bir simülasyon veri kümesi iki gerçek RNA-seq veri kümesi kullanılmıştır. UPf2 nakavt fare verileri, App mutant veri, Tau ve APP fare model çalışması ve tutulmamış intronları Eğri altında kalan alan (Area under the curve, AUC) ve Hassasiyet ve Duyarlılık eğrisi altında kalan alan (Area under precision recall curve, AUPRC) tahmini performansları değerlendirmek için dizayn edilmiştir. Simulasyon verilerinde metodlar arası doğru pozitif oranı ve hassasiyette (precision) AUC ve AUPRC değerleri karşılaştırıldığında IRFinder, İREAD, MİSO ve DEXSeq algoritmalarından SİMU30 verisine göre doğru pozitif oranında İREAD AUC: 0.90, IRFinder AUC: 0.74 hassasiyette (precision) ise İREAD AUPRC:0.80, IRFinder AUPRC:0.59 olduğu bildirilmiştir. Upf nakavt fare verilerinde ve APP mutant veri setinde algoritmalara ait venn diyagramında İREAD-DEXSeq ve İREAD-IRFinder kesişimleri gözlenmiştir. İREAD'ın 6 farklı yöntem arasında en iyi tahmin performansı gösterdiği bildirilmiştir. IRFinder'ın performansının İREAD kadar iyi olmadığı bildirilmiştir. Dizileme derinliğine göre incelenen AUC değerlerinde derinlik arttıkça AUC'nin azaldığı IRFinder'da ise tam tersi şekilde derinlik azaldıkça AUC'nin arttığı bildirilmiştir. Bu pozitif korelasyonun IR ayrımının kararlılığını gösterdiği bildirilmiştir (Zheng ve ark., 2022). App mutant diferansiyel ifade edilen anlamlı genlerin venn diyagramında ise IRFinder, İREAD ve DEXSeq'in MATS ve MİSO'ya göre daha çok kesiştiği gözlenmiştir. Yine Alzheimer hastalığı ile ilişkili APP geni IRFinder, İREAD ve DEXSeq algoritmalarına ait venn diyagramında belirlenmiştir. İREAD ve IRFinder'ın DEXSeq'e göre daha kısa sürede analizleri tamamladığı belirlenmiştir.

Diferansiyel ifade edilen genlerin iREAD ve IRFinder’da %80 oranında örtüştüğü bildirilmiştir Alzheimer hastalığı ile ilişkili bir genin iREAD, IRFinder, DEXseq algoritmasında, diğer genin ise iREAD, DEXseq algoritmalarında kesiştiği belirtilmiştir (Zheng ve ark., 2022).

Bitkilerde alternatif splicing olaylarını belirlemek için Qi ve ark. (2022) tarafından bildirilen ASTool algoritması whippet ve IRFinder algoritmaları ile performans karşılaştırmasına dahil edilmiştir. IR belirlenmesinde IRFinder’in ve Whippet’in sensitivite (recall) değerlerinin yaklaşık olarak %90, %85 olduğu ve hassasiyet (precision) oranlarının %90, %92 olduğu bildirilmiştir. Whippet’in bir çekirdekle işlemi 32 dakikada tamamlarken IRFinder’in 154.4 dakikada tamamladığı, whippet’in 10 çekirdek verilerek işlem yapamadığı, IRFinder’in ise 10 çekirdekte işlemi 31.3 dakikaya düşürdüğü bildirilmiştir (Qi ve ark., 2022). Bizim çalışmamızda ilk etapta 8 çekirdek tanımlanarak analizler entegre kodlar ile çalıştırılmıştır. Whippet için paralel kodu oluşturulmuştur, benzer süreler belirlenmiştir. IR olaylarının ASTool, Whippet, IRFinder ve SUPPA’da kesişim kümeleri incelendiğinde IRFinder ve Whippet’in ortak birçok gen belirlediği gözlenmiştir. Whippet, IRFinder ve ASTool’un ekson tabanlı SUPPA’nın ise transkript tabanlı olduğu bildirilmiştir. Whippet’in yeni IR olaylarını tanımlayamazken IRFinder’in tanımlayabildiği bildirilmiştir (Qi ve ark., 2022).

Oghabian ve ark. (2018) IntERESt algoritmasını incelerken çalışmada kullanılan maksimum biyolojik tekrar sayısının (sekiz) IR keşfi için gereken optimumu tahmin etmek için yeterli olmasa da, 35M’den fazla eşlenmiş okuma içeren kütüphane boyutlarının, yeni IR olaylarını tespit etmedeki iyileştirmelerin marjinal olduğu noktaya yaklaşmaya başladığını belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda servikal kanser dışında tüm kanser verileri 8’in üzerinde ve farklı okuma boyutlarına sahiptir. Bu çalışmada yukarı yönlü intron tutulumunda IntERESt-DEseq2’ye, IntERESt-edgeR’a göre daha fazla intron tutulumu belirlenen gen yakalarken aşağı yönlü intron tutulumunda bunun tam tersi IntERESt-edgeR’ın, IntERESt-DEseq2’ye göre daha fazla aşağı yönlü intron tutulumu belirlenen gen yakaladığı belirlenmiştir. IntERESt-DESeq2 algoritmasının IRFinder’ın yakaladığı genlerin yaklaşık olarak %90’ını belirlediği bildirilmiştir (Oghabian ve ark., 2018).

iREAD'in, intron bölgelerinin poli-A ile zenginleştirilmiş transkriptomik verilerini sorgulamak için yeni ve genel bir araç olduğu ve intron tutulma analizi, transkriptomu anlamak için tamamlayıcı bir yaklaşım sağladığı bildirilmiştir (Li ve ark., 2020). Yapılan çalışmada IRFinder'a göre iREAD'den elde edilen ortak genlerin 15 ve 30 milyon veri setlerinde okuma sayısı artışına göre kesişimlerinin arttığı bildirilmiştir. iREAD'in IRFinder'a göre hassasiyet (precision) değerlerinin FPKM değerlerinin 01, 03, 05 gold standart değerlerine göre %90 üzerinde olduğu, IRFinder'ın ise %60 ile %80 arasında değiştiği gözlenmiştir (Li ve ark., 2020). TPR ve FPR bakımından iREAD'in IRFinder'dan daha yüksek AUC değerlerine sahip olduğu ve her ikisinin kombinasyonunun en yüksek AUC'ye sahip olduğu gözlenmiştir (Li ve ark., 2020). Dolayısıyla iREAD ve IRFinder'ın ortak belirlediği genlerin dikkate alınması gerektiği sonucu çıkarılmıştır.

Jiang ve ark. (2023) farklı alternatif kırılma olaylarında splice bölgelerinin belirlenmesi ve bağlantı noktalarının belirlenmesinde 21 algoritma performanslarını gen ve olay bazında incelediği çalışmada bizim çalışmamızda incelenen Whippet algoritması da bulunmaktadır. Bu çalışmada tüm algoritmaların özellikle alternatif kırılma olaylarına özgü programlar olması sebebiyle diğer araçlarda üç eşik belirlendiğinde alternatif kırılmada tip 1 hata yapma olasılığının olay bazlı araç olan whippet'te yanlış pozitif keşif oranlarının yükseldiği bildirilmiştir. Whippet algoritmasının Doğru pozitif oranı (True Positive Rate, TPR) oranı 0.5'ten büyük ve $FDR < 0.05$ olarak keşiştiği algoritmanın SUPPA, $TPR > 0.30$ ve $FDR < 0.05$ olarak keşiştiği algoritmaların rMATS ve CASH olduğu bildirilmiştir. Fakat TPR'nin 0.70'ün üzerinde incelendiği algoritma kesişimlerinde whippet'in olmadığı görülmüştür. İncelenen algoritmalarından tek başlarına SUPPA, BANDITS ve IsoformSwitch Analyzer R algoritmalarının $TPR > 0.70$, $FDR < 0.5$ olduğu belirlendiği, Whippet algoritmasının BANDIT algoritması ile TPR oranının 0.77, FDR'sinin ise 0.45 olduğu, SUPPA ile de TPR: 0.74, FDR:0.42 olduğu belirlendiği bildirilmiştir. Düşük ifadeli transkript filtrelemesi sonrası performanslara bakıldığında Whippet'in gen ve olay bazlı F-skorlarının %51 ve %40 civarında olduğu belirlenmiştir. Yeni bağlantı ve yeni ekleme-kırılma yeri tanımlamasında TPR değerlerinin düşük ve FDR değerlerinin yüksek olduğu belirlenmiştir (Jiang ve ark., 2023). Bizim çalışmamızda tüm alternatif kırılma türlerinin tespitinden ziyade IR tespiti için araçlar incelendiğinde whippet'te elde edilen

sonuçlar yalnızca intron tutulumu bakımından incelenmiştir. Bu özelliği sebebiyle bütün kanser türlerinde en yüksek sayıda IR genlerini belirleyen algoritma olmuştur. Fakat bu algoritmanın geçerliliği ve güvenilirliğinin yüksek olduğunu ortaya koyamamaktadır.

Lin ve Krainer, (2019) bildirmiş olduğu çalışmada, üç ana kırpılma tespit yaklaşımını temsil eden PSI-Sigma ve önde gelen araçların (yani rMATS, SUPPA2 ve Whippet) tek ekzon atlaması (single-exon-skipping SES), karşılıklı dışlanan kırpılma (mutually-exclusive splicing MES), IR olaylarının belirlenmesinde performansını kıyaslamak için eklenmiş sentetik RNA karışımından [RNA Sequins (Hardwick ve ark., 2016)] ve gerçek RNA-seq verilerini kullanarak bir deneysel tasarım yapılmıştır. Buna göre RNA Sequinlerin, insan transkriptomunu çeşitli yönlerden (transkript uzunluğu, GC içeriği, ekzon boyutu, intron boyutu, vb.) taklit etmek üzere tasarlanan ve farklı RNA konsantrasyonlarına sahip iki karışım (Mix A ve Mix B) bulunan 164 poliA kuyruklu RNA molekülünden oluşan bir deney dizaynı olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, PSI-Sigma'nın performansını değerlendirmek amacıyla RNA Sequins ile güçlendirilmiş insan hücre hattı RNA'sından uzun okuma RNA-seq verileri üretildiği bildirilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre Whippet ve PSI-sigmanın alternatif kırpılma olayları olarak nitelenen 22 genin hepsini belirlediği duyarlılığının 1 olduğu, tüm algoritmaların ise ortak olarak 12 geni belirleyebildiği bildirilmiştir. Delta PSI $\neq$ 0 olduğunda IR duyarlılık (recall) oranlarının PSI-sigma ile benzer olduğu rMATS'ın ise daha düşük duyarlılık (recall) oranına sahip olduğu, SUPPA2'nin ise IR duyarlılık (recall) oranının 0 olduğu gözlenmiştir. Özellikle Delta PSI skorlarının (0-99) arasında cutoff değerinin doğrulandığı bir saçılım grafiğinde Whippet'in FPR oranlarının delta PSI %30 sonrasında 0'a düştüğü ve Psi-sigmaya yaklaştığı belirtilmiştir. Fakat bizim çalışmamızda referans makale Delta PSI değerini 0.10 olarak önerdiği için sonuçlar bu değere göre analiz edilmiştir. Bu çalışmada bildirilen deltaPSI alternatif kırpılma olaylarını tespit etmede olduğu için kesim noktasının yükselmesi gerektiği düşünölmüştür. İzoformaların belirlenmesinde whippet yetersiz kalabilir. Çünkü bir eksonun sadece bir delta PSI değerine sahip olması gerekir. Fakat PSI-sigmanın bu aşamada whippete göre iki izoformlu bir ekson için iki delta-PSI değerine sahip olması avantaj olarak bildirilmiştir. Aynı şekilde rMATS ve SUPPA'nında tek ekzon tabanlı yaklaşımlar olduğu için isoformları tespit edemeyeceği bildirilmiştir. rMATS'ın bildirilen üç sequin geninde IR olaylarını tespit edemediği belirlenmiştir (Lin ve

Krainer, 2019). FPR açısından, mutlak DPSI kesme değeri %10 olarak ayarlandığında (ortak bir kriter) rMATS'ın en düşük FPR'ye ve Whippet'in en yüksek FPR'ye sahip olduğu gösterilmiştir. Whippet'in düşük DPSI kesme değerlerinde daha yüksek FPR'ye sahip olması, kısmen, yapısal ekzonlara sahip olmak için ekzon atlama olaylarına ihtiyaç duymaması ve AS dışı olayları SES olayları olarak bildirmesinden kaynaklandığı belirtilmiştir (Lin ve Krainer, 2019).

Bu çalışmaların yanısıra bir sınırlama olarak, bölünmüş okuma tabanlı kırılma ölçümlerinin güçlü kovaryasyonlarının RNA-Seq derlemelerinde yaygın olduğunu gösteren Frésard ve ark. (2019) tarafından belirtilmiştir. Bu kovaryasyonların kökenleri cinsiyet, populasyon yapısı veya toplu etkiler (batch effect) veya değişken RNA kırılma dereceleri gibi teknik önyargıları içerebildiği bildirilmiştir. Bu gizli karıştırıcıların kontrol edilmemesinin, anormal kırılma olaylarının tespitinin hassasiyetini önemli ölçüde etkileyebileceği bildirilmiştir (Mertes ve ark., 2022). Bu hususta özellikle DNA kontaminasyonu veya RNA kalitesi açısından IRFinder ve IRFinder-S algoritmalarında kalite kontrolünün sağlanması bu etkilerin azaltılması açısından önem arz edebilir. İREAD algoritmasında IRFinder ve IRFinder-S algoritmasında trimlenmiş bam dosyaları kullanılmıştır. Bu açıdan İREAD içinde bu yanlışlık etkisinin azaltılabildiği söylenebilir fakat Whippet algoritmasında direkt olarak fastq formatında veriler analize girmiştir. Bu da özellikle Whippet'te tüm kanser verilerinde gözlenen yüksek intron tutulumunun özellikle bu safhadan geçmemesinden kaynaklanabileceğini düşündürmüştür. Ayrıca her bir kanser verisinin farklı bireysel genetik varyasyonlara sahip olabileceği, cinsiyetlerinin ne olduğunun belirgin olmayışı, hangi populasyonlardan geldikleri, yaş ve sağlık durumları gibi faktörlerin de intron tutulumunun belirlenmesinde rol oynayabileceğini düşündürmüştür.

Algoritmalar incelenirken bazı algoritmaların IR analizlerini de kapsayan Alternatif kırılma türlerinin belirlenmesi amacıyla yer aldığı geniş çaplı algoritmalar (Whippet, MISO, CASH, SUPPA, SUPPA2, vs.) olarak nitelenirken, bazıları ise yalnızca intron tutulumunun hesaplanmasına yönelik özel algoritmalar olduğu belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda da IRFinder, IRFinder-S ve İREAD algoritmalarının intronlara yönelik özel algoritmalar olduğu, Whippet algoritmasının ise tüm alternatif kırılma modlarını tespit etmek üzere dizaynedildiği belirlenmiştir. Yapılan bu çalışma ile alternatif kırılma modlarını tanımlayan algortimalar ile direkt IR tanımlaması yapan

algoritmaların neler olduğu belirlenmiştir. Algoritmaların henüz simülasyon yada intron tutulumu bilinen örneklerle yapılıyor olması performanslarının hangi açıdan değerlendirilmesi gerektiği varolan literatüre hakimiyet gerektirmektedir. İncelenen literatür taramaları ve elde edilen sonuçlara göre en son kurgulanan DeepRetention algoritmasının iREAD ve IRFinder algoritmaları sonuçları karşılaştırılarak kurgulanması bu algoritmalar ile belirlenen AUC değerlerinin yüksek ve pozitif korelasyon gösteriyor olması bu programların kullanıcılar tarafından kullanılabileceği sonucunu düşündürmüştür. Ayrıca bu algoritmada IRFinder-S'in kullanılmayışı muhtemelen algoritmanın çıkış zamanlarının analiz süreçlerine yetişememesinden kaynaklı olabileceğini düşündürmüştür. IRFinder-S'in IRFinder'in CNN analizi ile daha titiz sonuçlar verdiği önerisine dayanarak her üç algoritmanın da IR tespitinde araştırmacılarca kullanılması önerilebilir. Whippet algoritmasının özellikle kalite safhasını gerçekleştirmeyişi, DNA kontaminasyonu ile ilişkili filtrelemelerin olmayışı ve alternatif kırılma modlarının tamamını incelemesi sebebiyle diğer algoritmalara göre kullanılırken elde edilen sonuçların dikkatle yorumlanması gerektiği sonucuna varılmıştır. İREAD algoritmasının incelenen diğer IR algoritmalarına göre bağımsız intronları belirlediği gözlenmiştir. Bu da onu diğer IR algoritmaları arasında daha avantajlı kılmaktadır. Bu doğrultuda sonuçların bildirildiği venn diyagramlarında IRFinder, IRFinder-S ve iREAD algoritmalarının kesişim kümeleri incelendiğinde; Meme (yukarı ve aşağı yönlü), Kolorektal (yukarı yönlü), Mide (yukarı yönlü), Akciğer (yukarı ve aşağı yönlü), Prostat (aşağı yönlü) olmak üzere örneklem sayısı az olan servikal kanser dışında tüm kanser verilerinde intron tutulumuna ilişkin genleri tespit edilebildiği gözlenmiştir. Dolayısıyla github adresinde bildirilen venn diyagramı kesişim kümesi kromozom sayısı: başlangıç ve bitiş bölge sayıları incelenerek GO Biyolojik işleyiş, hücresel içerik ve moleküler fonksiyonlarına ilişkin yolların tespit edilebileceği ve çıkarımlar yapılabileceği sonucuna varılmıştır.

Örneklem sayısına ilişkin bir değerlendirme yapılacak olursa kontrol ve tümör gruplarında en çok örneklerin 80'er örnek ile mide kanseri verisinde olduğu, en az örneklemin ise servikal kanser (n:12, tümör:6, kontrol:6) veri grubunda olduğu metod kısmında bildirilmiştir. Buna göre beş kanser türünde (meme, kolorektal, mide, akciğer, prostat) üç algoritmada (IRFinder, IRFinder-S ve iREAD) intron tutulumuna ilişkin genler belirlenebilirken servikal kanser verisinde bu genler ortak olarak belirlenemiştir.

Araştırmacılara bu hususta çalışmadaki örneklem sayısını Oghabian ve ark. (2018) önerdiği gibi sekiz örnek üzeri örneklem dikkate alınarak yüksek tutmaları önerilebilir.

Okuma dizilerinin istatistiklerine göre algoritmalarından elde edilen intron tutulumu ilişkisi ele alındığında kırılmış ortalama okuma dizi sayısı en yüksekten en düşüğe doğru Akciğer için 80.7 milyon, Meme için 65.8 milyon, Mide için 67.4 milyon, Prostat için 42.4 milyon, Kolorektal için 18.7 milyon Servikal için 3.5 milyon okuma gerçekleştirildiği sonuçlar kısmında bildirilmiştir. Servikal kanser verisi dışında tüm kanser verilerinde üç algoritmanın kesişim kümesinde belirlenen genler okuma sayısının da önemini ortaya koymaktadır. Oghabian ve ark. (2018) bu hususta 35 milyon okuma üzerini önermişlerdir. Araştırmacıların bu algoritmalarla çalışırken bu teknik özellikleri de inceleyerek deney tasarımlarını planmaları önerilebilir.

Algoritmalarından elde edilen sonuçların yolak analizleri sonuçları da ayrıca değerlendirilmiştir. Servikal kanser verisi dışında tüm kanser türlerinde ShinyGo ve gProfiler sonuçları yukarı veya aşağı yönlü olmak üzere elde edilebilmiştir. Meme kanseri verilerinde IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının tümör grubunda kontrol grubuna göre intron tutulumu yüksek olarak belirlenen 47 gen bölgesinin ve belirlenen genlerin özelliklerine bakıldığında (Şekil 4.25) özellikle GC oranının yüksek olduğu gözlenmiştir. İlgili genlerden ENSG00000074181(NOTCH3), geninin shinyGO KEGG yolak analizleri sonuçlarında Notch sinyal yolağı, Th1 ve Th2 hücre farklılaşması, endokrin direnci, Tiroid hormon sinyal yolağı, Meme kanseri, MicroRNA'ların kanser yolaklarında yer aldığı belirlenmiştir. Bu gende chr19:15181801-15184294 ilgili bölgede kontrol dokularına göre tümör dokularında intron tutulumunun olabileceği belirlenmiştir. IRFinder ve IRFinder-S algoritmalarında en yüksek LogFC değerine sahip bölge olarak belirlenmiştir. İREAD'te ise 1.6 kat arttığı hesaplanmıştır. Notch sinyal yolağının birçok sinyal yolunun, temel pro-hayatta kalma ve pro-büyüme hücresel işlevlerini gerçekleştirmede ve kontrol etmede hayati önem taşıdığı iyi anlaşılmıştır (Kumari ve ark., 2024). Son derece korunan bir evrimsel sinyal yolu olan NOTCH sinyal yolunun, anormal NOTCH sinyal yolu olması halinde özellikle kanser olmak üzere çeşitli hastalıkların patofizyolojisiyle ilişkilendirildiği bildirilmiştir (Edwards ve Brennan, 2021; Kumari ve ark., 2024). NOTCH'un tümör oluşumunda, "çift taraflı kılıç" rolünü oynadığı, yani bağlamın doğasına bağlı olarak bir

onkogen veya bir tümör baskılayıcı gen olarak hareket edebileceği bildirilmiştir (Kumari ve ark., 2024). Çeşitli kanserlerdeki katılımı ve bunların inhibisyonu, kanser yönetimi konusunda da hedefli tedavi sağladığı belirtilmiştir (Kumari ve ark., 2024). Ayrıca Notch sinyallemesinin, kök hücrelerin hayatta kalması ve kendini yenilemesi, çoğalması veya farklılaşması dahil olmak üzere hücre kaderini düzenleyen evrimsel olarak korunan bir sinyalleme yolu olduğu bildirilmiştir (Below ve Osipo, 2020). Notch sinyallemesinin düzensizleştirilmesi, toplu tümör içinde meme kanseri kök hücreleri olarak adlandırılan küçük bir dirençli hücre popülasyonunu zenginleştirerek; tümör hücrelerinin yeniden farklılaşma süreci sırasında kök hücre benzeri özellikleri geliştirerek; veya epitelden mezenkimale geçişi teşvik ederek hedefli veya sitotoksik terapilere direnci teşvik ettiği bildirilmiştir (Below ve Osipo, 2020). Bu bağlamda ilgili genin özellikle üçlü negatif kanser alt tipi verilerinde çalıştığımız bu çalışmada intron tutulumu belirlenen genin validasyonu sağlanabilir. Yine meme kanseri yukarı yönlü intron tutulumu belirlenen genlerin GO moleküler fonksiyon analizlerinde “Transmembran reseptör protein tirozin fosfataz aktivitesi”, “Ekstraselüler matris sıkıştırma sağlayan yapısal bileşen”, “Glikozaminoglikan bağlanması”, “Hücre yapışması molekül bağlanması”, Katedrin bağlanması” gibi fonksiyonlarda yer aldığı belirlenmiştir.

Meme kanseri verilerinde kontrol grubuna göre tümör grubunda aşağı yönlü intron tutulumu belirlenen 3 gen bölgesindeki genlerin KEGG yolağına göre “Proteazom” yolağında yer aldığı belirlenmiştir. Bu genler ENSG00000116560 (SFPQ, chr1:35184593-35187000), ENSG00000136930(PSMB7, chr9:124353709-124356763), ENSG00000175221 (MED16, chr19:868499-868862) olarak belirlenmiştir. SFPQ Proline ve Glutamine zengin splaying faktör geni olarak isimlendirilmiştir. PSF/SFPQ, NONO ve PSPC1 dahil olmak üzere Drosophila davranış ve insan kırılma (DBHS) ailesi proteinleri, çeşitli dokuların fizyolojisine katkıda bulunan yaygın olarak ifade edilen RNA bağlayıcı proteinler olduğu bildirilmiştir. Bu proteinlerin nörolojik hastalıklar ve meme kanseri dahil olma üzere prostat ve karaciğer kanserlerinin doku fizyolojilerinde etkin olduğu bildirilmiştir (Takeiwa ve ark., 2024). PSMB7 proteasome 20S subunit beta 7 olarak isimlendiren genin tiroid kanser verilerinde kontrol grubuna göre düşük ifadenme gösterdiği bildirilmiştir (Hong ve ark., 2023). MED16 mediator complex subunit 1 olarak isimlendirilen genin ekspresyonunun ER+ meme kanseri

dokusunda mTOR (Mammalian Target of Rapamycin) sinyal yolağı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Li ve ark., 2022). Fakat bildirilen genlerle intron tutulumu ve meme kanseri ile ilişkili literatüre rastlanmamıştır. Moleküler fonksiyon olarak “Nükleer Vitamin D reseptör bağlanması”, “Treonin tipi endopeptidaz aktivitesi”, “Nükleer tiroid hormon reseptör bağlanması” gibi fonksiyonlarda yer aldığı belirlenmiştir. İlgili genlerin normal işleyişte intron tutulumuna uğrayabileceği fakat kanser dokularında bu sistemin işlemediği ön görülmektedir.

Kolorektal kanser verilerinde ENSG00000080824 (HSP90AA1, chr14:102081821-102082110; chr14:102083693-102083792; chr14:102084998-102085297) geninde üç algoritmada yukarı yönlü üç farklı bölgede intron tutulumu belirlenmiştir. İlgili genin moleküler fonksiyonlarına bakıldığında CTP bağlanması, dATP bağlanması, UTP bağlanması görevlerinde yer aldığı ve ayrıca sülfonilüre reseptör bağlantısı görevinde yer aldığı belirlenmiştir. Belirlenen HSP90AA1 geninin yüksek ekspresyonunun kolorektal kanserin kötü huylu davranışı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2022; Sain ve ark., 2023). İlgili genin kolon kanserinde anahtar belirteçlerden biri olduğu bildirilmiştir. Fakat intron tutulumuna ilişkin literatüre rastlanmamıştır.

Mide kanseri verilerinde yukarı yönlü intron tutulumu için 17 gen bölgesinde üç algoritmanın kesiştiği belirlenmiştir. Tablo 4.3’te bildirilen genlerin Şekil 4.63’de bildirilen GC oranlarına bakıldığında genom içeriğine göre yüksek bir GC oranına sahip olduğu belirlenmiştir. KEGG yolak analiz sonuçlarında “2-Oksalokarboksilik asit metabolizması”, “Aminoasit biyosentezi”, Diyabetik komplikasyonlarda AGE-RAGE sinyal yolağı”, “Protein parçalanması ve absorpsiyonu” yolaklarında görev alan genler olduğu belirlenmiştir. Biyolojik işleyiş yolaklarında immün yanıtın düzenlenmesi ve lipid metabolizmasının işleyişi yolaklarında ilgili listeden birden fazla genin yer aldığı belirlenmiştir. Ayrıca “Transforming growth factor beta 1 production” ve “Response to angiotensin” yolaklarında da oldukça zenginleştiği belirlenmiştir. GO Moleküler fonksiyon yolağında ise “Çekme mukavemeti sağlayan hücre dışı matris yapısal bileşeni” görevlerinde bulunan 2 gen olduğu belirlenmiştir. GO hücresel içerik yolaklarında ise “Fibriler kollajen trimer”, “Bantlı kollajen trimer”, “Kollajen trimer kompleksi”, “Endoplazmik retikulum”, “Ekstraselüler vezikül”, “Ekstraselüler boşluk, bölge” gibi hücresel alanlarda yer aldığı belirlenmiştir.

Akciğer Kanseri verilerinde ENSG00000183020(AP2A2 chr11:1009216-1009327; chr11:1009397-1009682) genine ait iki bölgede yukarı yönlü intron tutulumu belirlenmiştir. İlgili genin gProfiler analizine göre Transkripsiyon faktörü ZNF579 ile ilişkili olabileceği belirlenmiştir. Çalışmalar, transkripsiyon faktörü AP2A2'nin (aktivatör protein-2 alfa-2) mutasyona uğradığında meme kanserine neden olan ve bu nedenle meme kanseri çalışmaları için mükemmel bir hedef olan tümör baskılayıcı bir gen olan DLEC1'in ifadesinde yer aldığını göstermiştir. AP2A2'nin meme kanseri üzerindeki etkisi ilk olarak cBioPortal'dan alınan gen analiziyle anlaşıldığı bildirilmiştir (Niranjan ve ark., 2024). Fakat akciğer kanseri ile ilişkili bir literatür taramasına rastlanılmamıştır.

Prostat kanseri verilerinde aşağı yönlü intron tutulumu için belirlenenen üç gen bölgesine ait iki gen ENSG00000160789 (LMNA, chr1:156130773-156134402; chr1:156136121-156136213), ENSG00000160959 (LRR14, chr8:144520822-144520910) şeklinde belirlenmiştir. İlgili genlerin KEGG yolak analizleri incelendiğinde “Aritmojenik sağ ventriküler kardiyomiyopati”, “Hipertrofik kardiyomiyopati”, “Dilate kardiyomiyopati” ve “apoptoz” yollarında kontrol dokusunda tümör dokusuna kıyasla daha fazla intron tutulumu gözlenen genlerin ilişkili olabileceği yollar bildirilmiştir. Lamin A olarak nitelenen LMNA geninin yaşlanmada rolü olduğu bildirilmiştir (Primmer ve ark., (2022). İnsanlarda fizyolojik yaşlanmanın iki önemli ayırt edici özelliği olan genomik bütünlüğün kaybı ve hatalı laminar organizasyondan kaynaklanabilen ve nükleer mimarinin deforme olmasına ve replikatif senesansa yol açan telomer aşınması olduğu bildirilmiştir. Bunun ayrıca epigenetik manzarayı, mitokondriyal disfonksiyonu ve DNA onarımı, mTOR, MAPK, TGF beta gibi çeşitli sinyal yollarını olumsuz etkilediği bildirilmiştir (Sengupta ve Sengupta, 2022). Dış ve iç nükleer zarlardan, nükleer gözenek kompleksinden ve nükleer laminadan oluşan nükleer zarf (NE), kanser gelişimini kısıtlayanlar (genomik stabilite, hücre döngüsü düzenlemesi ve hücre göçü) dahil olmak üzere çok sayıda hücresel süreci düzenler. Bu nedenle, bozulmuş NE işlevsel olarak tümör oluşumuyla ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bu sebeple prostat kanseri ilerlemesi sırasında Lamin A/C ve B1'in gen ifadenmesi, hücre içi lokalizasyonu ve western blot analizleri yapıldığı bildirilmiştir (Sandoval ve ark., 2024). Prostat kanserinin de özellikle ileri yaşlarda görülen bir kanser türü olması kanser oluşum mekanizmasında intron tutulumuna ilişkin elde edilen sonuçların da

değerlendirilmesi gerektiğini düşündürmektedir. GO biyolojik işleyiş yolak analizinde ise “Mikrotübül sitoskeleton polaritesinin kuruluşu veya bakımı”, “Histon H3-K9 trimetilasyonun negatif düzenlenmesi”, “Mezenkimal hücre proliferasyonunun negatif düzenlenmesi”, Histon H3-K9 trimetilasyon”, “Strese cevap olarak kas hipertrofisi” gibi biyolojik işleyiş yolaklarında bulunan genlerin kontrol grubunda daha yüksek intron tutulumu seviyelerine sahip olduğu belirlenmiştir. GO hücresel içerik yolak analizi sonuçlarına göre Lamin flamenti, plazma ve endozom yüzeyinin ekstrinsik içeriklerinde, nükleer lamina da yer alan genlerde kontrol grubunda tümör grubuna göre daha fazla intron tutulumu olduğu ön görülmüştür. GO hücresel içerik analizinde “Lamin filament”, ve “Nükleer lamina” içeriklerinde yer aldığı belirlenmiştir. Gprofiler wikipathway sonuçlarına göre ise Lamin A üretim yolağı ile ilişkilendirilmiştir. Tüm bu sonuçlar doğrultusunda özellikle Lamin A/C, hücrenin yapısal stabilitesini, hücre hareketliliğini, mekanosensing'i, kromozom organizasyonunu, gen düzenlemesini, hücre farklılaşmasını, DNA hasarı onarımını ve telomer korumasını korumak gibi hücrelerde birçok işlevi olan bir nükleer protein olması sebebiyle (Dubik ve Mai, 2020) kontrol dokusunda tümör dokusuna göre ENSG00000160789 LMNA, chr1:156130773-156134402 intron tutulumunun kontrol grubunda kanser grubuna göre 1.9 kat LMNA chr1:156136121-156136213 bölgesinin ise kontrol grubunda tümör grubuna göre 2.11 kat daha fazla intron tutulumu gösterdiği belirlenmiştir. Kanser oluşum mekanizmasında bu bilgilerin değerli olabileceği ön görülmektedir.

Sonuç olarak incelenen dört algoritmaya ait performans farklılıkları elde edilen sonuçlar ile ortaya konulmaya çalışmış ve güncel literatür ile harmanlanarak bir takım çıkarımlarda bulunularak iş akış yönergesi de oluşturulmaya çalışılmıştır. İlk olarak intron tutulumu olaylarının yeni izoformların keşfi ile daha net bir sonuca varacağı göz önünde bulundurularak; IRFinder ve IRFinder-S algoritmalarının var olan izoformlar üzerinde belirlenen intronları tespit edebileceği yeni izoformlarda belirlenebilecek tutulmuş intronlarda sınırlı kalabileceği lüteratür değerlendirmelerine göre anlaşılmıştır. İREAD'in yeni izoformların kullanıcılar tarafından bildirilmesi ve havuza eklenebilmesi bu noktada bir avantaj olarak nitelendirilebilir. Whippet algoritmasının yalnızca intron tutulumuna yönelik bir algoritma olmayışı, diğer alternative kırılma yöntemlerini de belirleyebiliyor olması bu algoritmasının hassasiyetini diğer üçüne göre düşürebileceğini düşündürmüştür. IRFinder-S algoritmasının IRFinder algoritmasına

göre CNN eklentisinin olması ve uzun okumaların analizinde de kullanılabiliyor olması IRFinder eski versiyonuna göre avantaj olabilir. İREAD algoritmasının bağımsız intronları tespit edebiliyor olması, kullanıcı dostu olması ve en güncel algoritmalarından DeepRetention ile yakın AUC verilerine sahip oluyor olması onu tek başına diğerlerine göre daha avatajlı kılmaktadır. Fakat bu algoritmalar ile ilgili altın standart bir intron verisinin olmayışı net bir sonucun elde edilmesinde sınırlandırmaktadır. Algoritmalarından elde edilen GO yolak analizi sonuçlarında belirlenen genler incelendiğinde kanser yolağında ya da ilgili metabolik yolaklarda görevli olabilecek genlerin tahminlendiği belirlenmiştir. Bu da elde ettiğimiz sonuçların kanser türlerinde intron tutulumu ile ilişkili genlerin doğru pozitif genler olabileceğini öngörmektedir. Fakat bu bulguların RT-PCR ile validasyonunun sağlanması gerekmektedir.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Intron tutulumu, gen düzenlemesindeki rolleri ve hastalıklarla ilişkisi nedeniyle giderek daha fazla ilgi görmektedir. Sistemik deneysel karşılaştırmalar, mevcut yöntemlerin seçimi ve kullanımı açısından değerli olacaktır. Intron tutulumu belirlenmesinde her algoritmanın metriklerinin, ölçüm şeklinin farklı olması farklı performans sonuçlarını doğurabilmektedir. Fakat incelenen analizler ve literatürler sonucu özellikle İREAD ve IRFinder-S başta olmak üzere en az üç algoritma ile elde edilecek intron tutulumu genlerinin kanser, hastalık, gelişim safhalarında değerlendirilmesi araştırmacılara önerilmektedir. Elde edilen sonuçlara göre IRFinder, IRFinder-S, İREAD algoritmalarının belirlediği gen bölgelerinin kesişim noktasında kontrol grubuna göre tümör grubunda yukarı yönlü intron tutulumu Meme (47 gen bölgesi), Kolorektal (3 gen bölgesi), Akciğer (2 gen bölgesi), Mide (17 gen bölgesi) kanserinde belirlenmiştir. Aşağı yönlü intron tutulumunda ise meme (3 gen bölgesi), akciğer (5 gen bölgesi), prostat (3 gen bölgesi) kanseri verilerinde intron tutulumu belirlenmiştir. Servikal kanser verilerinde intron kesişimleri belirlenememiştir. Kesişim bölgelerine ait Cohen Kappa sonuçlarına göre en uyumlu algoritmaların IRFinder ve IRFinder-S (%99) olduğu belirlenmiştir. İREAD'ın ilk iki algoritma ile ortak tutulan intron bölgelerini kromozom sayısı başlangıç ve bitiş bölgeleri olarak belirleyebildiği Whippet algoritmasının ise ortak bölge belirleyemediği gözlenmiştir. Üç algortmada (IRFinder, IRFinder-S, İREAD) bulunan genlerin yolak analizi sonuçlarına göre özellikle meme kanserinde ENSG00000074181 (NOTCH3) ve kolorektal kanserde ENSG00000080824 (HSPA90AA1), akciğer kanserinde ENSG00000183020 (AP2A2) ilgili dokulara özgü kanser yolakları ile ilişkili olabileceği aynı zamanda prostat kanseri aşağı yönlü intron tutulumu genlerinden ENSG00000160789 (LMNA) geninin de bu yolaklarda intron tutulumu bakımından ilişkili olabileceği dolayısıyla incelenmesi önerilir. Bildirilen

diğer genlerin de bu hususta incelenmesi önerilmektedir. Özellikle meme kanserinde alt tipi verilmeyen diğer kanserlere nazaran üçlü negative kanser alt tipine ait örneklerden elde edilen sonuçların yolak analizlerinde meme kanseri ile ilişkili yolaklarda görev alan genler oluşu önem arz etmektedir. Bu noktada başlangıç örnek setlerinin bir örnek kanser alt tiplerini ile başlanmasının daha doğru sonuçlar ortaya koyacağını düşündürmüştür. Ayrıca servikal kanser dışında tüm kanser türlerinde en az üç algoritmada intron tutulumu içeren genlerin belirlenmesi örneklem sayısı ve okuma sayısının yüksek tutulması gerektiğini kanıtlar niteliktedir. Çalışmada kullanılan algoritmalara ait iş akış yönergesi de bulgulara oluşturulmuş ve incelenerek araştırmacılara yol gösterici olacağı düşünülmüştür. Literatür taramaları ve araştırma sonucu elde edilen verilere göre IRFinder, IRFinder-S ve İREAD algoritmalarında ortak bulunan tutulmuş intron bölgelerinin dikkate alınarak, yolak analizlerinin yapılması, validasyon çalışmalarının yapılması gerektiği, hastalık patogenezinin belirlenmesine yönelik yeni ip uçlarının keşfedilebileceği ön görülmüştür.

7. KAYNAKLAR

- Aanes H, Winata C, Moen L F, Østrup O, Mathavan S, Collas P, Rognes T, Aleström P. Normalization of RNA-sequencing data from samples with varying mRNA levels. PloS one, 2014; 9(2): e89158.
- Aaron R. Quinlan, Ira M. Hall, BEDTools: a flexible suite of utilities for comparing genomic features, Bioinformatics, 2010: 26(6); 841-842.
- Aksel, EG. Github Erişim: [\[https://github.com/esmagamze/Master_thesis_results_2024\]](https://github.com/esmagamze/Master_thesis_results_2024), Erişim tarihi: 14 Ağustos 2024.
- Alamancos GP, Pagès A, Trincado JL, Bellora N, Eyraş E. Leveraging transcript quantification for fast computation of alternative splicing profiles. RNA, 2015: 21(9); 1521-1531.
- Alwine JC, Kemp DJ, Stark GR. Method for detection of specific RNAs in agarose gels by transfer to diazobenzyloxymethyl- paper and hybridization with DNA probes. Proc Nat Acad Sci, 1977: 74(12); 5350-5354.
- Anczuków O, Krainer A R. Splicing-factor Alterations in Cancers. RNA, 2016: 22; 1285-1301.
- Anders S, Reyes A, Huber W. Detecting differential usage of exons from RNAseq data. Genome Res, 2012: 22; 2008-2017.
- Audic S, Claverie J-M. The significance of digital gene expression profiles. Genome Res, 1997: 7; 986-995.

- Baek D, Green P. Sequence conservation, relative isoform frequencies, and nonsense-mediated decay in evolutionarily conserved alternative splicing. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005; 102(36); 12813-12818.
- Bai Y, Ji S, Wang Y. IRcall and IRclassifier: two methods for flexible detection of intron retention events from RNA-Seq data. *BMC Genom*, 2015: 16 Suppl 2(Suppl 2).
- Belgrader P, Cheng J, Zhou X, Stephenson LS, Maquat LE. Mammalian nonsense codons can be cis effectors of nuclear mRNA half-life. *Mol Cell Biol*, 1994;14; 8219-8228.
- Bell T J, Miyashiro K Y, Sul J Y, Buckley P T, Lee M T, McCullough R, Jochems J, Kim J, Cantor C R, Parsons T D, Eberwine J H. Intron retention facilitates splice variant diversity in calcium-activated big potassium channels in hippocampal populations. *Proc Natl Acad Sci*, 2010: 107(49); 21152-21157.
- Bell T J, Miyashiro K Y, Sul J Y, McCullough R, Buckley P T, Jochems J, Meaney D F, Haydon P, Cantor C, Parsons T D, Eberwine J. Cytoplasmic BK(Ca) channel intron-containing mRNAs contribute to the intrinsic excitability of hippocampal neurons. *Proc Natl Acad Sci*, 2008: 105(6); 1901-1906.
- BeLow M, Osipo C. Notch Signaling in Breast Cancer: A Role in Drug Resistance. *Cells*, 2020: 9(10); 2204.
- Berget S M. Exon recognition in vertebrate splicing. *J Biol Chem*, 1995: 270(6); 2411-2414.
- Bicknell AA, Cenik C, Chua HN, Roth FP, Moore MJ. (2012). Introns in UTRs: why we should stop ignoring them. *BioEssays*, 2012: 34(12); 1025-1034.
- Black DL. Protein diversity from alternative splicing: a challenge for bioinformatics and post-genome biology. *Cell*, 2000: 103(3); 367-370.
- Boutz PL, Bhutkar A, Sharp PA. Detained introns are a novel, widespread class of post-transcriptionally spliced introns. *Genes Dev*, 2015: 29; 63-80.
- Braunschweig U, Barbosa-Morais NL, Pan Q, Nachman EN, Alipanahi B, Gonatopoulos-Pournatzis T, Frey B, Irimia M, Blencowe BJ. Widespread

- intron retention in mammals functionally tunes transcriptomes. *Genome Res*, 2014: 24(11); 1774-1786.
- Broseus L, Ritchie W. Challenges in detecting and quantifying intron retention from next generation sequencing data. *Comput Struc Biotechnol J*, 2020: 18; 501-508.
- Buckley PT, Lee MT, Sul J-Y, Miyashiro KY, Bell TJ, Fisher SA, Kim J, Eberwine J. Cytoplasmic intron sequence-retaining transcripts can be dendritically targeted via ID element retrotransposons. *Neuron*, 2011: 69; 877-884.
- Casadei S, Gulsuner S, Shirts BH, Mandell JB, Kortbawi HM, Norquist BS, Swisher E M, Lee MK, Goldberg Y, O'Connor R, Tan Z, Pritchard CC, King MC, Walsh T. Characterization of splice-altering mutations in inherited predisposition to cancer. *Proc Nat Acad Sci U S A*, 2019: 116(52); 26798-26807.
- Chen J, Weiss WA. Alternative splicing in cancer: implications for biology and therapy. *Oncogene*, 2015: 34(1);1-14.
- Cho V, Mei Y, Sanny A, Chan S, Enders A, Bertram EM, Tan A, Goodnow CC, Andrews TD. The RNA-binding protein hnRNPLL induces a T cell alternative splicing program delineated by differential intron retention in polyadenylated RNA. *Genome Biol* 2014: 15(1); R26.
- Deepak S, Kottapalli K, Rakwal R, Oros G, Rangappa K, Iwahashi H, Agrawal G. Real-time PCR: Revolutionizing detection and expression analysis of genes. *Curr Genomics*, 2007: 8(4); 234-251.
- Dillies M-A, Rau A, Aubert J, Hennequet-Antier C, Jeanmougin M, Servant N, et al. A comprehensive evaluation of normalization methods for Illumina highthroughput RNA sequencing data analysis. *Brief Bioinform*, 2013: 14; 671-83
- Dobin A, Davis CA, Schlesinger F, Drenkow J, Zaleski C, Jha S, Batut P, Chaisson M, Gingeras TR. STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. *Bioinformatics*, 2013: 29(1); 15-21.

- Dolatshad H, Pellagatti A, Liberante FG, Llorian M, Repapi E, Steeples V, Roy S, Scifo L, Armstrong RN, Shaw J, Yip BH, Killick S, Kušec R, Taylor S, Mills KI, Savage K I, Smith CW, Boultonwood J. Cryptic splicing events in the iron transporter ABCB7 and other key target genes in SF3B1-mutant myelodysplastic syndromes. *Leukemia*, 2016: 30(12); 2322-2331.
- Dubik N, Mai S. Lamin A/C: Function in Normal and Tumor Cells. *Cancers (Basel)*. 2020: 12(12); 3688.
- Dufner-Almeida L G, do Carmo R T, Masotti C, Haddad L A. Understanding human DNA variants affecting pre-mRNA splicing in the NGS era. *Adv Genet*, 2019: 103; 39-90.
- Dvinge H, Bradley RK. Widespread intron retention diversifies most cancer transcriptomes. *Genome Med*, 2015: 7(1); 45.
- Edwards A, Brennan K. Notch Signalling in Breast Development and Cancer. *Front Cell Dev Biol*. 2021: 9; 692173.
- Edwards CR, Ritchie W, Wong JJ, Schmitz U, Middleton R, An X, Mohandas N, Rasko JE, Blobel GA. A dynamic intron retention program in the mammalian megakaryocyte and erythrocyte lineages. *Blood*, 2016: 127(17); e24-e34.
- Ewels P, Magnusson M, Lundin S, Käller M. MultiQC: summarize analysis results for multiple tools and samples in a single report. *Bioinformatics*, 2016: 32(19); 3047-3048.
- Fields C, Sheng P, Miller B, Wei T, Xie M. Northern blot with IR fluorescent probes: Strategies for probe preparation. *Bio-Protocol*, 2019.
- Frésard L, Smail C, Ferraro NM, Teran NA, Li X, Smith KS, Bonner D, Kernohan KD, Marwaha S, Zappala Z, Balliu B, Davis JR, Liu B, Prybol CJ, Kohler JN, Zastrow DB, Reuter CM, Fisk DG, Grove ME, Davidson JM, Hartley T, Joshi R, Strober BJ, Utiramerur S; Undiagnosed Diseases Network; Care4Rare Canada Consortium; Lind L, Ingelsson E, Battle A, Bejerano G, Bernstein JA, Ashley EA, Boycott KM, Merker JD, Wheeler MT, Montgomery SB. Identification of rare-disease genes using blood

- transcriptome sequencing and large control cohorts. *Nat Med*, 2019: 25(6); 911-919.
- Friedman BA, Maniatis T. Expressionplot: a web-based framework for analysis of rna-seq and microarray gene expression data. *Genome Biol*, 2011: 12; R69.
- Gao X, Qiao Y, Han D, Zhang Y, Ma N. Enemy or partner: relationship between intronic micrnas and their host genes. *IUBMB Life*, 2012: 64(10); 835-840.
- Gascard P, Bilenky M, Sigaroudinia M, Zhao J, Li L, Carles A, Delaney A, Tam A, Kamoh B, Cho S, Griffith M, Chu A, Robertson G, Cheung D, Li I, Heravi-Moussavi A, Moksa M, Mingay M, Hussainkhel A, Davis B, Hirst M. Epigenetic and transcriptional determinants of the human breast. *Nat Commun*, 2015: 6; 6351.
- Ge SX, Jung D, Yao R. ShinyGO: a graphical gene-set enrichment tool for animals and plants. *Bioinformatics*, 2020: 36; 2628-2629.
- Ge Y, Porse BT. The functional consequences of intron retention: alternative splicing coupled to NMD as a regulator of gene expression. *BioEssays*, 2014: 36(3); 236-243.
- Grabski D F, Broseus L, Kumari B, Rekosh D, Hammarskjold M L, Ritchie W. Intron retention and its impact on gene expression and protein diversity: A review and a practical guide. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2021: 12(1); e1631.
- Grant GR, Farkas MH, Pizarro AD, Lahens NF, Schug J, Brunk BP, Stoeckert CJ, Hogenesch JB, Pierce EA. Comparative analysis of rna-seq alignment algorithms and the rna-seq unified mapper (rum). *Bioinformatics*, 2011: 27; 2518-2528.
- Gültekin M, Boztaş G. Türkiye Kanser İstatistikleri, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu. 2014.
- Hamilton M. IDiffIR—Identifying differential intron retention from RNA-seq. 2015.
- Hammarskjold ML, Bor YC, Swartz J, Li J, Coyle J, Rekosh D. Northern blot analysis of mRNA from mammalian polyribosomes. *Nat Protoc*, 2006.

- Hardwick SA, Chen WY, Wong T, Deveson IW, Blackburn J, Andersen SB, Nielsen LK, Mattick JS, Mercer TR. Spliced synthetic genes as internal controls in RNA sequencing experiments. *Nat Methods*, 2016: (9); 792-798.
- Harrow J, Frankish A, Gonzalez JM, Tapanari E, Diekhans M, Kokocinski F, Aken BL, Barrell D, Zadissa A, Searle S, Barnes I, Bignell A, Boychenko V, Hunt T, Kay M, Mukherjee G, Rajan J, Despacio-Reyes G, Saunders G, Steward C, Harte R, Lin M, Howald C, Tanzer A, Derrien T, Chrast J, Walters N, Balasubramanian S, Pei B, Tress M, Rodriguez JM, Ezkurdia I, van Baren J, Brent M, Haussler D, Kellis M, Valencia A, Reymond A, Gerstein M, Guigó R, Hubbard TJ. GENCODE: the reference human genome annotation for The ENCODE Project. *Genome Res*, 2012: 22(9); 1760-1774.
- Hillman RT, Green RE, Brenner SE. An unappreciated role for RNA surveillance. *Genome Biol*, 2004: 5(2); R8.
- Hirose T, Steitz JA. Position within the host intron is critical for efficient processing of box C/D snoRNAs in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci*, 2001: 98(23); 12914-12919.
- Hong K, Cen K, Chen Q, Dai Y, Mai Y, Guo Y. Identification and validation of a novel senescence-related biomarker for thyroid cancer to predict the prognosis and immunotherapy. *Front Immunol*, 2023: 14; 1128390.
- Hsu TY, Simon LM, Neill NJ, Marcotte R, Sayad A, Bland CS, Echeverria GV, Sun T, Kurley SJ, Tyagi S, Karlin KL, Dominguez-Vidaña R, Hartman JD, Renwick A, Scorsone K, Bernardi RJ, Skinner SO, Jain A, Orellana M, Lagisetti C, Golding I, Jung SY, Neilson JR, Zhang XH, Cooper TA, Webb TR, Neel BG, Shaw CA, Westbrook TF. The spliceosome is a therapeutic vulnerability in MYC-driven cancer. *Nature*. 2015: 17; 525(7569), 384-388.
- iREAD Algoritması, Erişim: [<https://github.com/genemine/iread>], Erişim Tarihi: 14 Ağustos 2024.
- IRFinder Algoritması Erişim: [<https://github.com/williamritchie/IRFinder>], Erişim Tarihi: 14 Ağustos 2024.

- IRFinder-S Algoritması, Erişim: [<https://github.com/RitchieLabIGH/IRFinder>], Erişim Tarihi: 14 Ağustos 2024.
- Irimia M, Blencowe BJ. Alternative splicing: decoding an expansive regulatory layer. *Curr Opin Cell Biol*, 2012: 24(3); 323-332.
- Jacob AG, Smith C. Intron retention as a component of regulated gene expression programs. *Hum Genet*, 2017: 136(9); 1043-1057.
- Jiang M, Zhang S, Yin H, Zhuo Z, Meng G. A comprehensive benchmarking of differential splicing tools for RNA-seq analysis at the event level. *Brief Bioinform*, 2023: 24(3); bbad121.
- Jung H, Lee D, Lee J, Park D, Kim YJ, Park WY, Hong D, Park PJ, Lee E. Intron retention is a widespread mechanism of tumor-suppressor inactivation. *Nat Genet*, 2015: 47(11); 1242-1248.
- Kalsotra A, Cooper TA. Functional consequences of developmentally regulated alternative splicing. *Nat Rev Genet*, 2011: 12(10); 715-729.
- Kalyna M, Lopato S, Voronin V, Barta A. Evolutionary conservation and regulation of particular alternative splicing events in plant SR proteins. *Nucleic Acids Res*, 2006: 34; 4395-4405.
- Katz Y, Wang ET, Airolidi EM, Burge CB. Analysis and design of RNA sequencing experiments for identifying isoform regulation. *Nat Methods*, 2010: 7(12); 1009-1015.
- Kent WJ. Blat the blast-like alignment tool. *Genome Res*, 2002: 12; 656-664.
- Khan A, Mathelier A. Intervene: a tool for intersection and visualization of multiple gene or genomic region sets. *BMC Bioinformatics*, (2017): 18(1); 287.
- Khodor YL, Rodriguez J, Abruzzi KC, Tang C-H A, Marr MT, Rosbash M. Nascent-seq indicates widespread cotranscriptional pre-mRNA splicing in *Drosophila*. *Genes Dev*, 2011: 25(23); 2502-2512.
- Kim D, Pertea G, Trapnell C, Pimentel H, Kelley R, Salzberg S L. TopHat2: accurate alignment of transcriptomes in the presence of insertions, deletions and gene fusions. *Genome Biol*, 2013: 14; R36.

- Kim YK, Kim VN. Processing of intronic microRNAs. *EMBO J*, 2007: 26(3); 775-783.
- Kolberg L, Raudvere U, Kuzmin I, Adler P, Vilo J, Peterson H. g:Profiler-interoperable web service for functional enrichment analysis and gene identifier mapping (2023 update), *Nucleic Acids Res*, 2023: 51(W1); W207-W212,
- Krueger F, James F, Ewels P, Afyounian E, Weinstein M, Schuster-Boeckler B, Hulselmans G. FelixKrueger/TrimGalore: v0.6.10 - add default decompression path (0.6.10). Zenodo, 2023.
- Kumar A, Kasikci Y, Badredine A, Azzag K, Quintyn Ranty ML, Zaidi F, Aragou N, Mazerolles C, Malavaud B, Mendoza-Parra MA, Vandel L, Gronemeyer H. Patient-matched analysis identifies deregulated networks in prostate cancer to guide personalized therapeutic intervention. *Am J Cancer Res*, 2021: 11(11); 5299-5318.
- Kumari L, Mishra L, Sharma Y, Chahar K, Kumar M, Patel P, Gupta G D, Kurmi BD. NOTCH Signaling Pathway: Occurrence, Mechanism, and NOTCH-Directed Therapy for the Management of Cancer. *Cancer Biother Radiopharm*, 2024: 39(1); 19-34.
- Lareau LF, Inada M, Green RE, Wengrod JC, Brenner SE. Unproductive splicing of SR genes associated with highly conserved and ultraconserved DNA elements. *Nature*, 2007: 446; 926-929.
- Lee Y, Rio DC. Mechanisms and regulation of alternative Pre-mRNA splicing. *Annu Rev Biochem*, 2015: 84; 291-323.
- Lejeune F, Maquat L E. Mechanistic links between nonsense-mediated mRNA decay and pre-mRNA splicing in mammalian cells. *Curr Opin Cell Biol*, 2005; 17(3): 309-315.
- Li Y, Bor YC, Misawa Y, Xue Y, Rekosh D, Hammariskjold ML. An intron with a constitutive transport element is retained in a Tap messenger RNA. *Nature*, 2006: 443; 234-237.
- Li H, Handsaker B, Wysoker A, Fennell T, Ruan J, Homer N, Marth G, Abecasis G, Durbin R; and 1000 Genome Project Data Processing Subgroup, The

- sequence alignment/map format and SAMtools. *Bioinformatics*, 2009: 25(16); 2078-2079.
- Li Y, Rao X, Mattox WW, Amos CI, Liu B. RNA-Seq Analysis of Differential Splice Junction Usage and Intron Retentions by DEXSeq. *PLoS One*, 2015: 10(9); e0136653.
- Li HD, Funk CC, Price ND. iREAD: A tool for intron retention detection from RNA-seq data. *BMC Genom*, 2020: 21(1); 128.
- Li QL, Lin X, Yu YL, Chen L, Hu QX, Chen M, Cao N, Zhao C, Wang CY, Huang CW, Li LY, Ye M, Wu M. Genome-wide profiling in colorectal cancer identifies PHF19 and TBC1D16 as oncogenic super enhancers. *Nat Commun*, 2021: 12(1); 6407.
- Li H, Li K, Shu D, Shen M, Tan Z, Zhang W, Pu D, Tan W, Tang Z, Jin A, Liu S. MED16 Promotes Tumour Progression and Tamoxifen Sensitivity by Modulating Autophagy through the mTOR Signalling Pathway in ER-Positive Breast Cancer. *Life (Basel)*, 2022: 12(10); 1461.
- Lin KT, Krainer AR. PSI-Sigma: a comprehensive splicing-detection method for short-read and long-read RNA-seq analysis. *Bioinformatics*, 2019: 35(23); 5048-5054.
- Lin X, Chen JD, Wang CY, Cai Z, Zhan R, Yang C, Zhang LY, Li LY, Xiao Y, Chen MK, Wu M. (2023). Cooperation of MLL1 and Jun in controlling H3K4me3 on enhancers in colorectal cancer. *Genome Biol*, 2023: 24(1); 268.
- Llorian M, Gooding C, Bellora N, Hallegger M, Buckroyd A, Wang X, Rajgor D, Kayikci M, Feltham J, Ule J, Eyraas E, Smith CW. The alternative splicing program of differentiated smooth muscle cells involves concerted non-productive splicing of post-transcriptional regulators. *Nucleic Acids Res*, 2016: 44(18); 8933-8950.
- Lorenzi C, Barriere S, Arnold K, Luco RF, Oldfield AJ, Ritchie W. IRFinder-S: a comprehensive suite to discover and explore intron retention. *Genome Biol*, 2021: 22(1); 307.

- Love MI, Huber W, Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol*, 2014; 15.
- Lutter D, Marr C, Krumsiek J, Lang EW, Theis FJ. Intronic microRNAs support their host genes by mediating synergistic and antagonistic regulatory effects. *BMC Genomics*, 2010; 11; 224.
- Marquez Y, Brown J W, Simpson C, Barta A, Kalyna M. Transcriptome survey reveals increased complexity of the alternative splicing landscape in Arabidopsis. *Genome Res*, 2012; 22(6); 1184-1195.
- Marquez Y, Höpfler M, Ayatollahi Z, Barta A, Kalyna M. Unmasking alternative splicing inside protein-coding exons defines exons and their role in proteome plasticity. *Genome Res*, 2015; 25(7); 995-1007.
- Mauger O, Lemoine F, Scheiffele P. Targeted intron retention and excision for rapid gene regulation in response to neuronal activity. *Neuron*, 2016; 92; 1266-1278.
- Memon D, Dawson K, Smowton CS, Xing W, Dive C, Miller CJ. Hypoxia-driven splicing into noncoding isoforms regulates the DNA damage response. *NPJ Genom Med*, 2016; 1; 16020.
- Mertes C, Scheller IF, Yépez VA, Çelik MH, Liang Y, Kremer LS, Gusic M, Prokisch H, Gagneur J. Author Correction: Detection of aberrant splicing events in RNA-seq data using FRASER. *Nat Commun*, 2022; 13(1); 3474.
- Middleton R, Gao D, Thomas A, Singh B, Au A, Wong J J L, Bomane A, Cosson B, Eyraas E, Rasko J E, Ritchie W. IRFinder: assessing the impact of intron retention on mammalian gene expression. *Genome Biol*, 2017; 18; 51.
- Mudge JM, Harrow J. Creating reference gene annotation for the mouse C57BL6/J genome assembly. *Mamm Genome*, 2015; 26(9-10); 366-378.
- Mun DG, Bhin J, Kim S, Kim H, Jung JH, Jung Y, Jang YE, Park JM, Kim H, Jung Y, Lee H, Bae J, Back S, Kim SJ, Kim J, Park H, Li H, Hwang KB, Park YS, Yook JH, Kim BS, Kwon SY, Ryu SW, Park DY, Jeon TY, Kim DH, Lee JH, Han SU, Song KS, Park D, Park JW, Rodriguez H, Kim J, Lee H, Kim KP, Yang EG, Kim HK, Paek E, Lee S, Lee SW, Hwang D. Proteogenomic

- Characterization of Human Early-Onset Gastric Cancer. *Cancer Cell*, 2019; 35(1); 111-124.e10.
- Ner-Gaon H, Halachmi R, Savaldi-Goldstein S, Rubin E, Ophir R, Fluhr R. Intron retention is a major phenomenon in alternative splicing in Arabidopsis. *The Plant J*, 2004; 39(6); 877-885.
- Ni T, Yang W, Han M, Zhang Y, Shen T, Nie H, Zhou Z, Dai Y, Yang Y, Liu P, Cui K, Zeng Z, Tian Y, Zhou B, Wei G, Zhao K, Peng W, Zhu J. Global intron retention mediated gene regulation during CD4⁺ T cell activation. *Nucleic Acids Res*, 2016; 44(14); 6817-6829.
- Nilsen TW, Graveley BR. Expansion of the eukaryotic proteome by alternative splicing. *Nature*, 2010; 463(7280); 457-463.
- Niranjan V, Setlur A S, K C, Kumkum S, Dasgupta S, Singh V, Desai V, Kumar J. Exploring the Synergistic Mechanism of AP2A2 Transcription Factor Inhibition via Molecular Modeling and Simulations as a Novel Computational Approach for Combating Breast Cancer: In Silico Interpretations. *Mol Biotechnol*, 2024; 66(9); 2497-2521.
- Odham CA, Graham DSC, Vyse TJ. Profiling RNA-Seq at multiple resolutions markedly increases the number of causal eQTLs in autoimmune disease. *PLoS Genet*, 2017; 13(10); e1007071.
- Oghabian A, Greco D, Frilander MJ. IntERESt: intron-exon retention estimator. *BMC Bioinformatics*, 2018; 19; 130.
- Oliveros JC. Venny. An interactive tool for comparing lists with Venn's diagrams. (2007-2015) Erişim: [<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>], Erişim tarihi: 14 Ağustos 2024.
- Pan Q, Shai O, Lee LJ, Frey BJ, Blencowe BJ. Deep surveying of alternative splicing complexity in the human transcriptome by high-throughput sequencing. *Nat Genet*, 2008; 40; 1413-1415.
- Pimentel H, Conboy JG, Pachter L. Keep me around: intron retention detection and analysis. 2015.

- Pimentel H, Parra M, Gee SL, Mohandas N, Pachter L, Conboy JG. A dynamic intron retention program enriched in RNA processing genes regulates gene expression during terminal erythropoiesis. *Nucleic Acids Res*, 2016: 44; 838-851.
- Ponchel F, Toomes C, Bransfield K, Leong FT, Douglas SH, Field SL, Bell SM, Combaret V, Puisieux A, Mighell AJ, Robinson PA, Inglehearn CF, Isaacs JD, Markham AF. Real-time PCR based on SYBR-Green I fluorescence: an alternative to the TaqMan assay for a relative quantification of gene rearrangements, gene amplifications and micro gene deletions. *BMC Biotechnol*, 2003: 3; 18.
- Primmer SR, Liao CY, Kummert OMP, Kennedy BK. Lamin A to Z in normal aging. *Aging (Albany NY)*. 2022: 14(20); 8150-8166.
- Qi H, Guo X, Wang T, Zhang Z. ASTool: An Easy-to-Use Tool to Accurately Identify Alternative Splicing Events from Plant RNA-Seq Data. *Int J Mol Sci*, 2022: 23(8); 4079.
- Rajeevan MS, Vernon SD, Taysavang N, Unger ER. Validation of array-based gene expression profiles by real-time (kinetic) RT-PCR. *J Mol Diag*, 2001: 3(1); 26-31.
- Rio DC, Laski FA, Rubin GM. Identification and immunochemical analysis of biologically active *Drosophila* P element transposase. *Cell*, 1986: 44(1); 21-32.
- Robinson MD, McCarthy DJ, Smyth GK. edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. *Bioinformatics*, 2010: 26; 139-140.
- Robinson MD, Oshlack A. A scaling normalization method for differential expression analysis of RNA-seq data. *Genome Biol*, 2010: 11; R25.
- Sain A, Khamrai D, Kandasamy T, Naskar D. Apigenin exerts anti-cancer effects in colon cancer by targeting HSP90AA1. *J Biomol Struct Dyn*, 2023: 1-13.

- Sandoval Duarte A, Garrido E, Camacho J, Magaña J, Cisneros B. Altered expression and localization of nuclear envelope proteins in a prostate cancer cell system. 2024: 10.21203/rs.3.rs-4451237/v1 (preprint).
- Schmittgen TD, Zakrajsek BA, Mills AG, Gorn V, Singer MJ, Reed MW. Quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction to study mRNA decay: Comparison of endpoint and real-time methods. *Anal Biochem*, 2000: 285(2); 194-204.
- Schmitz U, Pinello N, Jia F, Alasmari S, Ritchie W, Keightley M C, Rasko J E J. Intron retention enhances gene regulatory complexity in vertebrates. *Genome Biol*, 2017: 18(1); 216.
- Sebé-Pedrós A, Irimia M, Del Campo J, Parra-Acero H, Russ C, Nusbaum C, Blencowe BJ, Ruiz-Trillo I. Regulated aggregative multicellularity in a close unicellular relative of metazoa. *Elife*, 2013: 24; 2:e01287.
- Sengupta D, Sengupta K. Lamin A and telomere maintenance in aging: Two to Tango. *Mutat Res*, 2022: 825; 111788.
- Shalgi R, Hurt JA, Lindquist S, Burge CB. Widespread inhibition of posttranscriptional splicing shapes the cellular transcriptome following heat shock. *Cell Rep*, 2014: 7; 1362-1370.
- Shen S, Park JW, Huang J, Dittmar KA, Lu ZX, Zhou Q, Carstens RP, Xing Y. MATS: a Bayesian framework for flexible detection of differential alternative splicing from RNA-Seq data. *Nucleic Acids Res*, 2012: 40(8); e61.
- Shen S, Park JW, Lu ZX, Lin L, Henry MD, Wu YN, Zhou Q, Xing Y. rMATS: robust and flexible detection of differential alternative splicing from replicate RNA-Seq data. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014: 111(51); E5593-E5601.
- Shen W, Le S, Li Y, Hu F. SeqKit: a cross-platform and ultrafast toolkit for FASTA/Q file manipulation, *PLoS one*, 2016: 11(10); e0163962.
- Statista, 2024. Erişim: [<https://www.statista.com/>], Erşim Tarihi: 14 Ağustos 2024.

- Sterne-Weiler T, Weatheritt RJ, Best AJ, Ha KCH, Blencowe BJ. Efficient and Accurate Quantitative Profiling of Alternative Splicing Patterns of Any Complexity on a Laptop. *Mol Cell*, 2018: 72(1); 187-200.e6.
- Takeiwa T, Ikeda K, Horie K, Inoue S. Role of RNA binding proteins of the Drosophila behavior and human splicing (DBHS) family in health and cancer. *RNA Biol*, 2024: 21(1); 1-17.
- Trincado JL, Entizne JC, Hysenaj G, Singh B, Skalic M, Elliott DJ, Eyraas E. SUPPA2: fast, accurate, and uncertainty-aware differential splicing analysis across multiple conditions. *Genome Biol*, 2018: 19(1); 40.
- Vanichkina DP, Schmitz U, Wong JJ, Rasko J. Challenges in defining the role of intron retention in normal biology and disease. *Semin Cell Biol*, 2018: 75; 40-49.
- Vaquero-Garcia J, Barrera A, Gazzara MR, González-Vallinas J, Lahens NF, Hogenesch JB, Lynch KW, Barash Y. A new view of transcriptome complexity and regulation through the lens of local splicing variations. *Elife*, 2016: 1; 5:e11752.
- Varley KE, Gertz J, Roberts BS, Davis NS, Bowling KM, Kirby MK, Nesmith AS, Oliver PG, Grizzle WE, Forero A, Buchsbaum DJ, LoBuglio AF, Myers RM. Recurrent read-through fusion transcripts in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 2014: 146(2); 287-297.
- Wang ET, Sandberg R, Luo S, Khrebtkova I, Zhang L, Mayr C, Kingsmore SF, Schroth GP, Burge CB. Alternative isoform regulation in human tissue transcriptomes. *Nature*, 2008: 456; 470-476.
- Wang K, Singh D, Zeng Z, Coleman S J, Huang Y, Savich G L, He X, Mieczkowski P, Grimm S A, Perou C M, MacLeod J N, Chiang D Y, Prins J F, Liu J. MapSplice: accurate mapping of RNA-seq reads for splice junction discovery. *Nucleic Acids Res*, 2010: 38(18); e178.
- Wang X, Wu F, Xie Q, Wang H, Wang Y, Yue Y, Gahura O, Ma S, Liu L, Cao Y, Jiao Y, Puta F, McClung CR, Xu X, Ma L. Skip is a component of the spliceosome linking alternative splicing and the circadian clock in arabidopsis. *The Plant Cell*, 2012: 24; 3278-3295.

- Wang Q, Rio DC. JUM is a computational method for comprehensive annotation-free analysis of alternative pre-mRNA splicing patterns. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018; 115(35); E8181-E8190.
- Whippet Algoritması Erişim: [<https://github.com/timbitz/Whippet.jl>], Erişim Tarihi: 14 Ağustos 2024.
- Wickham H. *Gdplot: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer Science & Business Media, 2009.
- Wingett SW, Andrews S. FastQ Screen: A tool for multi-genome mapping and quality control, *F1000Res*, 2018; 7; 1338.
- Wong JJ, Ritchie W, Ebner OA, Selbach M, Wong JW, Huang Y, Gao D, Pinello N, Gonzalez M, Baidya K, Thoeng A, Khoo TL, Bailey CG, Holst J, Rasko JE. Orchestrated intron retention regulates normal granulocyte differentiation. *Cell*, 2013; 154(3); 583-595.
- Wong JJ, Au AY, Ritchie W, Rasko JE. Intron retention in mRNA: No longer nonsense: Known and putative roles of intron retention in normal and disease biology. *Bioessays*. 2016; 38(1): 41-49.
- Wu JY, Potashkin JA. Alternative splicing in the nervous system, in: L.R Squire (Ed.) *Encyclopedia of Neuroscience*, Academic Press, Oxford, 2009, pp. 245-251.
- Wu W, Zong J, Wei N, Cheng J, Zhou X, Cheng Y, Chen D, Guo Q, Zhang B, Feng Y. CASH: a constructing comprehensive splice site method for detecting alternative splicing events. *Brief Bioinform*. 2018, 28: 19(5); 905-917.
- Wu Z, Zheng J, Liu J, Lin C, Li H-D. DeepRetention: A Deep Learning Approach for Intron Retention Detection. *Big Data Min Anal*, 2023; 6; 115-126.
- Yap K, Lim ZQ, Khandelia P, Friedman B, Makeyev EV. Coordinated regulation of neuronal mRNA steady-state levels through developmentally controlled intron retention. *Genes Dev*, 2012; 26(11); 1209-1223.
- Zhang T, Joubert P, Ansari-Pour N, Zhao W, Hoang PH, Lokanga R, Moyer AL, Rosenbaum J, Gonzalez-Perez A, Martínez-Jiménez F, Castro A, Muscarella LA, Hofman P, Consonni D, Pesatori AC, Kebede M, Li M,

Gould Rothberg BE, Peneva I, Schabath MB, Poeta ML, Costantini M, Hirsch D, Heselmeyer-Haddad K, Hutchinson A, Olanich M, Lawrence SM, Lenz P, Duggan M, Bhawsar PMS, Sang J, Kim J, Mendoza L, Saini N, Klimczak LJ, Islam SMA, Otlu B, Khandekar A, Cole N, Stewart DR, Choi J, Brown KM, Caporaso NE, Wilson SH, Pommier Y, Lan Q, Rothman N, Almeida JS, Carter H, Ried T, Kim CF, Lopez-Bigas N, Garcia-Closas M, Shi J, Bossé Y, Zhu B, Gordenin DA, Alexandrov LB, Chanock SJ, Wedge DC, Landi MT. Genomic and evolutionary classification of lung cancer in never smokers. *Nat Genet*, 2021: 53(9); 1348-1359.

Zhang M, Peng Y, Yang Z, Zhang H, Xu C, Liu L, Zhao Q, Wu J, Wang H, Liu J. DAB2IP down-regulates HSP90AA1 to inhibit the malignant biological behaviors of colorectal cancer. *BMC Cancer*, 2022: 22(1); 561.

Zhao S, Zhang Y, Gamini R, Zhang B, Schach DV. Evaluation of two main RNA-seq approaches for gene quantification in clinical RNA sequencing: polyA+ selection versus rRNA depletion. *Sci Rep*, 2018: 8; 4781.

Zheng J, Lin C, Wu Z, Li HD. A comparison of computational approaches for intron retention detection. *Big Data Min Anal*, 2022: 5(1); 15-31.



Turnitin Orijinallik Raporu

FARKLI KANSER TÜRLERİNE AİT RNA-SEQ VERİLERİNDE INTRON TUTULUMUNUN TESPİTİ VE SINIFLANDIRILMASINDA BİYOBİYOİNFORMATİK YAKLAŞIMLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ
Esma Gamze Aksel tarafından

Quick Submit (Quick Submit) den

Benzerlik Endeksi	Kaynağa göre Benzerlik
%3	İnternet Sources %1 Kayıtlar %3 Öğrenci Ödevleri N/A

13-Eki-2024 14:26 +03' de işleme kondu

kaynaklar:

NUMARA: 2483615888
Kelime Sayısı: 16401

- 1 1% match (Dündar, Emrah. "Çelik yapıların doğrusal olmayan dinamik analizi", Dokuz Eylül Üniversitesi (Turkey), 2024)

[Dündar, Emrah. "Çelik yapıların doğrusal olmayan dinamik analizi", Dokuz Eylül Üniversitesi \(Turkey\), 2024](#)

- 2 < 1% match (03-Tem-2023 tarihli internet)

<https://avesis.erciyes.edu.tr/publication/details/10fc7de5-9532-4a92-a609-74f238198ad5/oa>

- 3 < 1% match (Coskun, Melis Debreli. "NF-kB ve oksidatif stresin inhibisyonu ile peripherel noropatinin iyileştirilmesi ve kanser kemoterapi sonuclarinin gelistirilmesi", Bursa Uludag University (Turkey), 2021)

[Coskun, Melis Debreli. "NF-kB ve oksidatif stresin inhibisyonu ile peripherel noropatinin iyileştirilmesi ve kanser kemoterapi sonuclarinin gelistirilmesi", Bursa Uludag University \(Turkey\), 2021](#)

- 4 < 1% match (Barış, Veysel Karani. "Kanta ve Paydaş Görüşlerine Dayalı Düşme Önleyici Girişimlerin Hasta Düşmelerine ve Hastane Maliyetlerine Etkisi", Dokuz Eylül Üniversitesi (Turkey), 2024)

[Barış, Veysel Karani. "Kanta ve Paydaş Görüşlerine Dayalı Düşme Önleyici Girişimlerin Hasta Düşmelerine ve Hastane Maliyetlerine Etkisi", Dokuz Eylül Üniversitesi \(Turkey\), 2024](#)

- 5 < 1% match (05-Nis-2022 tarihli internet)

https://acikbilim.yok.gov.tr/bitstream/handle/20.500.12812/688618/yokAcikBilim_10255644.pdf?sequence=-1

- 6 < 1% match ("Poster Özetleri / Poster Abstracts", Turkish Journal of Biochemistry, 2015)

["Poster Özetleri / Poster Abstracts", Turkish Journal of Biochemistry, 2015](#)

- 7 < 1% match (Çevik, Asuman. "Gıda Endüstrisi Yan Ürünleri ve Atıklarının Ekmek ve Makarnanın Fonksiyonel Özelliklerinin Geliştirilmesinde Kullanımı", Necmettin Erbakan University (Turkey), 2024)

[Çevik, Asuman. "Gıda Endüstrisi Yan Ürünleri ve Atıklarının Ekmek ve Makarnanın Fonksiyonel Özelliklerinin Geliştirilmesinde Kullanımı", Necmettin Erbakan University \(Turkey\), 2024](#)

- 8 < 1% match (Karaosmanoglu, Oguzhan. "Kemoterapi Ajanlarına Dirençli Hepatosellüler Karsinoma Hücrelerinde Olası Biyoisaretilerin in Vitro Arastirilmasi", Anadolu University (Turkey), 2021)

[Karaosmanoglu, Oguzhan. "Kemoterapi Ajanlarına Dirençli Hepatosellüler Karsinoma Hücrelerinde Olası Biyoisaretilerin in Vitro Arastirilmasi", Anadolu University \(Turkey\), 2021](#)

- 9 < 1% match (19-Oca-2021 tarihli internet)

<http://tez.sdu.edu.tr/Tezler/TF03756.pdf>

- 10 < 1% match (Fejzullahu, Arta. "Metastatik Meme Kanseri Tedavisinde NF-kB Sinyal Yolu Regulatorlerinin Arastirilmasi", Mammara Universitesi (Turkey), 2022)

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı : Esmâ Gamze AKSEL
Uyruğu : Türkiye Cumhuriyeti

EĞİTİM

DERECE

KURUM

MEZUNİYET

Doktora	Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Zootečni Anabilim Dalı	Temmuz 2019
Lisans	Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi	Haziran 2010
Lise	Mersin-Anamur Süper Lisesi (Yabancı Dil Ağırlıklı Lise)	Haziran 2004

İŞ DENEYİMLERİ

YIL

KURUM

GÖREV

2012-2019	Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Genetik A.B.D.	Araştırma Görevlisi
2019-2022	Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Genetik A.B.D.	Araş. Gör. Dr.
2022-	Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Genetik A.B.D.	Dr. Öğr. Üyesi

YABANCI DİL

KPDS (2010): 65
ÜDS (2011): 78.75
YÖKDİL(2021): 76.25