

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI



İNSAN SLC6A4 VE *Caenorhabditis elegans* ORTOLOG GENİ MOD-5'İN KARŞILAŞTIRILMASI

GÜLSÜM SARITAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Jüri Üyeleri : Doç. Dr. Sümeyye AYDOĞAN TÜRKOĞLU (Tez Danışmanı)
: Doç. Dr. Görkem DENİZ SÖNMEZ
: Dr. Öğr. Selma ÇELEN YÜCETÜRK

BALIKESİR, MAYIS – 2026

ETİK BEYAN

Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak tarafımda hazırlanan “İNSAN SLC6A4 VE *Caenorhabditis elegans* ORTOLOG GENİ MOD-5’İN KARŞILAŞTIRILMASI” başlıklı tezde;

- Tüm bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Kullanılan veriler ve sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Tüm bilgi ve sonuçları bilimsel araştırma ve etik ilkelere uygun şekilde sunduğumu,
- Yararlandığım eserlere atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,

beyan eder, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Gölsüm SARITAŞ

ÖZET

**İNSAN SLC6A4 VE *Caenorhabditis elegans* ORTOLOG GENİ MOD-5'İN
KARŞILAŞTIRILMASI
YÜKSEK LİSANS TEZİ
GÜLSÜM SARITAŞ
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI
(TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. SÜMEYYE AYDOĞAN TÜRKOĞLU)
BALIKESİR, MAYIS - 2026**

Serotonin (5-hidroksitriptamin, 5-HT), merkezi sinir sistemi ve periferik dokularda çok sayıda fizyolojik sürecin düzenlenmesinde rol oynayan önemli bir monoamindir. Serotonin sinyalinin düzenlenmesinde kritik öneme sahip olan serotonin geri alım taşıyıcı proteini (SERT), insanlarda SLC6A4 geni tarafından kodlanmaktadır. Serotonerjik sistemin evrimsel olarak korunmuş olması bu sistemin farklı organizmalarda karşılaştırmalı olarak incelenmesine olanak sağlamaktadır. Bu bağlamda, *Caenorhabditis elegans*'ta serotoninin geri alımından sorumlu olan MOD-5 geni, insan SLC6A4 geninin fonksiyonel homologue olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmanın amacı, insan SLC6A4 geni ile *C. elegans* MOD-5 geni arasındaki genetik ve promotör düzeyindeki benzerliklerin biyoinformatik araçlar kullanılarak belirlenmesi ve serotonerjik sistemin kanserle olan ilişkilerinin değerlendirilmesidir. Çalışmada NCBI, BLAST, BioEdit, Primer3, EPD ve KEGG Pathways gibi biyoinformatik veri tabanları ve analiz araçları kullanılmıştır. Yapılan dizisel hizalama analizlerinde, SLC6A4 ve MOD-5 genleri arasında 250 bp ile 2840 bp arasında değişen bölgelerde anlamlı benzerlikler tespit edilmiştir. Protein dizileri üzerinden gerçekleştirilen BLAST analizlerinde ise iki gen arasında yaklaşık %85 oranında amino asit benzerliği olduğu belirlenmiştir. SLC6A4 ve MOD-5 genlerine özgü olarak tasarlanan primerlerin hedef genlerle %100 benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca SLC6A4 geninin promotör bölgesi NCBI ve EPD veri tabanları kullanılarak belirlenmiş ve gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynayan düzenleyici bölgeler tanımlanmıştır. KEGG Pathways analizleri, serotoninin MAPK ve PI3K/Akt gibi kanserle ilişkili sinyal yollarında etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca farklı kanser ve sağlıklı hücre hatlarında SLC6A4 mRNA seviyesi araştırılmıştır. Du145, PC-3, Ln-Cap, Saos-2, HT-29 ve HUVEC hücre hatlarında gözlenen ifade seviyesi UALCAN platformunda sağlıklı ve tümör dokularında da analiz edilmiştir. Genin bu dokulardaki metilasyon seviyeside incelenmiştir. Elde edilen bulgular, MOD-5 geninin insan SLC6A4 geninin fonksiyonel bir homologue olduğunu desteklemekte ve serotonerjik sistemin kanser biyolojisinde önemli bir rol oynadığını ortaya koymaktadır. Bu çalışma, serotonerjik sistemin moleküler mekanizmalarının anlaşılmasına katkı sağlamakta ve gelecekte yapılacak deneysel ve terapötik çalışmalara altyapı oluşturabilecek niteliktedir.

ANAHTAR KELİMELELER: Biyoinformatik, *Caenorhabditis elegans*, MOD-5, SLC6A4

ABSTRACT

COMPARISON OF HUMAN SLC6A4 AND *Caenorhabditis elegans* ORTHOLOGOUS GENE MOD-5

MSC THESIS

GÜLSÜM SARITAŞ

BALIKESİR UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

DEPARTMENT OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS

(SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. SÜMEYYE AYDOĞAN TÜRKÖĞLU)

BALIKESİR, JUNE - 2026

Serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT) is an important monoamine that plays a key role in the regulation of numerous physiological processes in both the central nervous system and peripheral tissues. The serotonin reuptake transporter protein (SERT), which is essential for the regulation of serotonergic signaling, is encoded by the SLC6A4 gene in humans. The evolutionary conservation of the serotonergic system allows comparative studies across different organisms. In this context, the MOD-5 gene in *Caenorhabditis elegans*, responsible for serotonin reuptake, is considered a functional homolog of the human SLC6A4 gene. The aim of this study was to determine the genetic and promoter-level similarities between the human SLC6A4 gene and the *C. elegans* MOD-5 gene using bioinformatic tools, and to evaluate the relationship between the serotonergic system and cancer. Bioinformatic databases and analysis tools including NCBI, BLAST, BioEdit, Primer3, EPD, and KEGG Pathways were used in this study. Sequence alignment analyses revealed significant similarities between the SLC6A4 and MOD-5 genes in regions ranging from 250 bp to 2840 bp. Protein-based BLAST analyses demonstrated approximately 85% amino acid sequence similarity between the two genes. The primers designed specifically for SLC6A4 and MOD-5 showed 100% similarity with their target genes. In addition, the promoter region of the SLC6A4 gene was identified using the NCBI and EPD databases, and regulatory regions involved in gene expression were characterized. KEGG Pathways analysis indicated that serotonin is involved in cancer-related signaling pathways, including MAPK and PI3K/Akt. In addition, SLC6A4 mRNA levels were investigated in different cancer and healthy cell lines. Expression levels observed in Du145, PC-3, Ln-Cap, Saos-2, HT-29, and HUVEC cell lines were also analyzed in healthy and tumor tissues using the UALCAN platform. The methylation level of the gene in these tissues was also examined. The findings of this study support that the MOD-5 gene is a functional homolog of the human SLC6A4 gene and demonstrate that the serotonergic system plays a significant role in cancer biology. This study contributes to the understanding of the molecular mechanisms of the serotonergic system and provides a foundation for future experimental and therapeutic studies.

KEYWORDS: Bioinformatics, *Caenorhabditis elegans*, MOD-5, SLC6A4

Science Code / Codes: 20326, c20332

Page Number: 62

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
İÇİNDEKİLER(devam)	iv
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
ŞEKİL LİSTESİ (devam).....	vi
ŞEKİL LİSTESİ (devam).....	vii
SEMBOL VE KISALTMALAR LİSTESİ	ix
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	x
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Serotonin Metabolizması	1
1.2 Serotonin Biyosentezi	2
1.3 Periferik Sistemde Sentezlenen Serotoninin İşlevleri.....	4
1.3.1 Beyaz yağ dokusu'nda (WAT) Serotoninin Rolü.....	4
1.3.2 Pankreasta Serotoninin Rolü	5
1.3.3 Bağırsak Hareketliliğinde Serotoninin Rolü	6
1.3.4 Karaciğerde Serotoninin Rolü	6
1.3.5 Safra Kesesinde Serotoninin Rolü	7
1.3.6 Kalp Kası ve İskelet Kasında Serotoninin Rolü	7
1.3.7 Bağırsıklık Sisteminde Serotoninin Rolü	8
1.4 Merkezi Sinir Sisteminde Sentezlenen Serotoninin İşlevleri	8
1.4.1 İştah ve Besin Alımında Serotoninin Rolü	9
1.4.2 Enerji Alımının Düzenlenmesinde Serotoninin Rolü.....	9
1.5 Serotonin Reseptörleri	9
1.6 SLC6A4 Geni ve Kodladığı Protein: Serotonin Taşıyıcı (SERT)	11
1.7 Serotonin ve Kanser.....	12
1.7.1 Meme Kanserinde Serotonin Yolu	13
1.7.2 Akciğer Kanserinde Serotonin Yolu	14
1.7.3 Kolon Kanserinde Serotonin Yolu	14
1.7.4 Kolanjiyokarsinom'da (Safra Kanalı Kanseri) Serotonin Yolu	15
1.7.5 Hepatoselüler Kanserde (HCC) Serotonin Yolu	15
1.7.6 Glioblastomada Serotonin Yolu	16
1.7.7 Mesane Kanserinde Serotonin Yolu	16
1.7.8 Prostat Kanserinde Serotonin Yolu	17
1.7.9 Yumurtalık Kanserinde Serotonin Yolu	17
1.7.10 Melanomada serotonin Yolu	18
1.8 SERT ve Kanser.....	18
1.9 Potansiyel Bir Terapötik Hedef Olarak Serotonin Sinyal Yolu.....	19
1.10 Serotoninin Memelilerde ve <i>Caenorhabditis elegans</i> 'da Sentezlenmesi	21
1.11 Model Organizmamız; <i>Caenorhabditis elegans</i> (<i>C. elegans</i>)	21
1.11.1 <i>Caenorhabditis elegans</i> 'ı Model Organizma Olarak Tercih Etmemizdeki Nedenler.....	23
1.11.2 <i>C. elegans</i> 'ta Serotonin Sentezi.....	24

İÇİNDEKİLER

Sayfa

1.11.3	<i>C. elegans</i> 'ta SLC6A4 Benzeri Gen; MOD-5	25
1.12	Amaç	26
2.	MATERYAL-METOD	28
2.1	Materyaller	28
2.1.1	Çalışmada Kullanılan Kimyasallar	28
2.1.2	Çalışmada Kullanılan Canlılar	28
2.2	Metot	28
2.2.1	Sterilizasyon İşlemleri	28
2.2.2	İn-siliko Analizler	28
2.2.2.1	Gen Dizilerinin Elde Edilmesi	28
2.2.2.2	Promotor Bölgesi Analizi	28
2.2.2.3	Transkripsiyon Faktörü Bağlanma Bölgelerinin Belirlenmesi	29
2.2.2.4	Dizi Benzerliği Analizi	29
2.2.2.5	Yolak Analizleri	29
2.2.2.6	Primer Tasarımları	29
2.2.3	In-vivo Analizler	29
2.2.3.1	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile cDNA Kontrolü	29
2.2.3.2	Agaroz Jel Elektroforezi	30
3.	BULGULAR	30
3.1	Çalışılan genlere ait dizilerin elde edilmesi	30
3.2	SLC6A4 ve MOD-5 Gen Dizilerinin Benzerlik Analizi	31
3.3	SLC6A4 Genine Ait Primer Tasarımı ve Doğrulama Sonuçları	35
3.4	MOD-5 Genine Ait Primer Tasarımı ve Doğrulama Sonuçları	36
3.5	SLC6A4 Geninin Promotör Bölgesinin Belirlenmesi	37
3.6	KEGG Pathways ve String Analizi Sonuçları	41
3.7	UALCAN Sonuçları	45
3.7.1	Kolon Adenokarsinoma İçin UALCAN Sonuçları	45
3.7.2	Prostat adenokarsinoma için UALCAN sonuçları:	47
3.7.3	Sarkoma için UALCAN Sonuçları	49
3.8	In-vitro Çalışmalar	51
3.8.1	Farklı Hücre Hatlarında SLC6A4 mRNA İfadesinin Belirlenmesi	51
4.	TARTIŞMA VE SONUÇ	53
EKLER	57	
5.	EKLER	58
5.1	EK A:	58
5.2	EK B:	60
KAYNAKLAR	61	
KAYNAKLAR(devam)	62	
ÖZGEÇMİŞ	63	

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1: Serotoninin moleküler yapısı (WebQC.Org, 2026).....	2
Şekil 1.2: Periferik serotonin sentezi (Karmakar, 2021).....	3
Şekil 1.3: Serotonin sentezine yakından bakış (Karmakar, 2021).	3
Şekil 1.4: Serotonin Biyosentezi: Periferik ve merkezi serotoninin etkileri (Walther, 2003).	4
Şekil 1.5: Serotonin ve yağ doku (Watanabe, 2017).....	5
Şekil 1.6: Serotonin ve pankreas (Miller School Of Medicine, 2025).....	5
Şekil 1.7: Bağırsak-beyin eksen ve serotonin metabolizması (Aydın, 2021).	6
Şekil 1.8: Karaciğer ve serotonin (Watanabe, 2017).	7
Şekil 1.9: Safra asidi döngüsünün periferik serotonin tarafından düzenlenmesi (Watanabe, 2017).	7
Şekil 1.10: İskelet kası ve serotonin (Watanabe, 2017).	8
Şekil 1.11: Serotonin sinyalleşmesinin bağışıklık sisteminin farklı bileşenleri üzerindeki etkileri (Karmakar, 2021).	8
Şekil 1.12: Reseptör türleri (Özdoğan, 2025).	9
Şekil 1.13: Hücre içi reseptörlerinin çalışması (Charles Sturt Universty, 2025).	10
Şekil 1.14: Hücre yüzey reseptörleri (Özdoğan, 2025).	10
Şekil 1.15: Serotonin reseptör ekspresyonu ve sinyal yolları (Yabut, 2019).	11
Şekil 1.16: SLC6A4 geni (Çınar, 2020).	12
Şekil 1.17: Serotonin sinyalleşmesinin kanser üzerindeki etkileri (Karmakar, 2021).	12
Şekil 1.18: Serotonin ve kanser (Karmakar, 2021).	13
Şekil 1.19: Şerotoninin meme kanseri ilerlemesi üzerindeki etkilerini (Barmanbay, 2022).	13
Şekil 1.20: Kolon Kanseri (Kannen, 2020).	14
Şekil 1.21: Kolanjiokarsinom (Safra Kanalı Karsinomu) (Sia, 2013).	15
Şekil 1.22: Glioblastoma üzerine serotoninin etkisi (Caragher, 2018).	16
Şekil 1.23: Prostat kanseri (Carvalho-Dias, 2017).	17
Şekil 1.24: Serotoninin memelilerdeki (Şekil A) ve <i>Caenorhabditis elegans</i> 'daki (Şekil B) sentezi (Curran, 2012).	21
Şekil 1.25: <i>Caenorhabditis elegans</i> (Sternberg, 2025.).	22
Şekil 1.26: <i>C. elegans</i> ' ın yaşam döngüsü (Sternberg, 2025.).	23
Şekil 1.27: <i>C. elegans</i> 'taki serotonin sentezine yakından bir bakış (Curran, 2012).	25
Şekil 1.28: MOD-5'in 3D yapısı (Curran, 2012).	26
Şekil 3.1: SLC6A4 mRNA nükleotid dizisi.	31
Şekil 3.2: MOD-5 mRNA nükleotid dizisi.	31
Şekil 3.3: SLC6A4 ve MOD-5 'in nükleotid karşılaştırılması.	33
Şekil 3.4: SLC6A4 ve MOD-5 'in amino asit dizisi karşılaştırılması.	34
Şekil 3.5: İnsan SLC6A4 ve <i>C. elegans</i> MOD-5 amino asit dizilerinin Blast ikili hizalama kullanılarak elde edilen karşılaştırma sonucu.	34
Şekil 3.6: Primerlerin dizi üzerinde gösterimi.	35
Şekil 3.7: SLC6A4 forward primer blast sonucu.	35
Şekil 3.8: SLC6A4 reverse primer blast sonucu.	36
Şekil 3.9: MOD5 için seçilen Primerlerin dizilerinin gösterimi.	36
Şekil 3.10: MOD-5 forward primer blast sonucu.	37
Şekil 3.11: MOD-5 reverse primer blast sonucu.	37
Şekil 3.12: NCBI veri tabanı kullanılarak elde edilen SLC6A4 genine ait promotör dizisi.	38

ŞEKİL LİSTESİ (devam)

Sayfa

- Şekil 3.13:** EPD veri tabanı kullanılarak elde edilen SLC6A4 genine ait promotör dizisi. 39
- Şekil 3.14:** EPD veri tabanı kullanılarak elde edilen SLC6A4 genine ait promotör dizisi üzerindeki TATA-box bağlanma bölgesi. 39
- Şekil 3.15:** EPD veri tabanı kullanılarak elde edilen SLC6A4 genine ait promotör dizisi üzerindeki GC-box bağlanma bölgesi. 40
- Şekil 3.16:** EPD veri tabanı kullanılarak elde edilen SLC6A4 genine ait promotör dizisi üzerindeki HIF1A transkripsiyon faktörü bağlanma bölgesi..... 40
- Şekil 3.17:** EPD veri tabanı kullanılarak elde edilen SLC6A4 genine ait promotör dizisi üzerindeki SP1 transkripsiyon faktörü bağlanma bölgesi. 40
- Şekil 3.18:** EPD veri tabanı kullanılarak elde edilen SLC6A4 genine ait promotör dizisi üzerindeki CREB transkripsiyon faktörü bağlanma bölgesi. 41
- Şekil 3.19:** KEGG Pathways veri tabanı kullanılarak elde edilen serotonin sinyal yolu... 42
- Şekil 3.20:** String Pathways veri tabanı kullanılarak elde edilen SLC6A4 (A) ve MOD-5 (B) ilgili protein ilişkileri. 44
- Şekil 3.21:** SLC6A4 Geninin Tümör ve Normal Dokulardaki DNA Metilasyon Analizi. UALCAN veritabanı (TCGA veri seti) üzerinden yapılan analizde, SLC6A4 promoter bölgesinin hem normal hem de tümör dokularında bazal olarak çok düşük metilasyon seviyelerine (Beta < 0.1) sahip olduğu belirlenmiştir. 45
- Şekil 3.22:** COAD Dokularında SLC6A4 mRNA Ekspresyon Analizi (TPM). UALCAN veritabanı analizine göre, SLC6A4 geninin kolon dokusunda bazal ekspresyon seviyelerinin oldukça düşük olduğu saptanmıştır (Normal: 0,426 TPM; Tümör: 0,212 TPM). Primer tümör ve sağlıklı kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir (p = 0.562). Bu düşük bazal transkripsiyon profili, Şekil 20'de sunulan düşük promoter metilasyonu ile birlikte değerlendirildiğinde; SLC6A4'ün normal fizyolojik koşullarda minimal düzeyde ifade edildiği, ancak epigenetik olarak "açık" yapısı sayesinde hipoksi gibi patolojik stres faktörlerine karşı hızlı transkripsiyonel yanıt verme potansiyeline sahip olduğu sonucuna varılmıştır..... 46
- Şekil 3.23:** PRAD Örneklerinde SLC6A4 Promotör Metilasyon Analizi. Normal (n=50) ve birincil tümör (n=502) dokuları arasında SLC6A4 promotör metilasyon seviyeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p = 0.028). Beta değerleri üzerinden sunulan veriler, genin prostat kanserinde anlamlı bir epigenetik değişim sergilediğini göstermektedir..... 47
- Şekil 3.24:** PRAD (Prostat Adenokarsinoma) Örneklerinde SLC6A4 mRNA Ekspresyon Seviyeleri. TCGA veri seti analizinde, normal prostat dokusu (n=52) ile birincil tümör dokusu (n=497) arasında SLC6A4 ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p = 0.911). Değerler TPM birimiyle sunulmuş olup, veriler genin PRAD dokularında bazal düzeyde stabil bir transkripsiyonel profil sergilediğini göstermektedir..... 48
- Şekil 3.25:** SARC Dokularında SLC6A4 Promotör Metilasyon Seviyeleri. TCGA veri seti analizine göre, normal ve birincil tümör dokuları arasında SLC6A4 promotör metilasyon düzeyleri açısından ileri derecede anlamlı fark saptanmıştır (p = 1.25 x10⁻⁷). Beta değerleri üzerinden sunulan veriler, genin sarkomda güçlü bir epigenetik modülasyona maruz kaldığını ve bu durumun mRNA ekspresyonundaki düşüşle uyumlu olduğunu göstermektedir. 49

ŞEKİL LİSTESİ (devam)

Sayfa

- Şekil 3.26:** SARC Dokularında SLC6A4 mRNA Ekspresyon Profili. TCGA veri setindeki sarkom (n=260) ve normal (n=2) doku örneklerinin karşılaştırmalı analizi sunulmuştur. Tümör dokularında medyan ekspresyon seviyesinin sağlıklı örneklerle oranla yaklaşık 10 kat düşük olduğu saptanmıştır (0,025 ile 0,242 TPM). Yetersiz kontrol grubu sayısı nedeniyle p-değeri anlamlılık düzeyinin altında kalmış olsa da ($p = 0.955$), görsel veriler tümör progresyonuyla ilişkili bir transkripsiyonel azalma eğilimi göstermektedir. 50
- Şekil 3.27:** Farklı hücre hatlarındaki H β 2 PCR sonuçlarına ait agaroz jel elektroforezi sonuçları (M: 50bp Marker, 1: HT29, 2: HUVEC, 3: SAOS, 4: LNCAP, 5: PC-3, 6: DU145, M: 1KB Marker). 51
- Şekil 3.28:** SLC6A4 PCR sonuçlarına ait agaroz jel elektroforezi (N.K: Negatif Kontrol, P.K: Pozitif Kontrol, 1: HT29, 2: HUVEC, 3: SAOS, 4: LNCAP, 5: PC-3, 6: DU145, M: 1KB Marker; N.K: Negatif Kontrol, P.K: Pozitif Kontrol 1: HUVEC 72h Hipoksi, 2: HUVEC 72h Normoksi, 3: HUVEC 48h Hipoksi, 4: HUVEC 48h Normoksi., 5: HUVEC 24h Hipoksi, 6: HUVEC 24h Normoksi, M: 1KB MARKER)*C. elegans*'da MOD-5 mRNA İfadesinin Belirlenmesi. 52
- Şekil 3.29:** SLC6A4 mRNA ifadesinin densitometrik analiz sonucu. 52
- Şekil 5.1:** Homo sapiens 5-hydroxytryptamine receptor 6 (HTR6), mRNA. 59
- Şekil 5.2:** *Caenorhabditis elegans* Taşıyıcı (mod-5), kısmi mRNA. 60

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1: Serotonin reseptörlerinin bulunduğu bölgeler ve işlevleri (Karmakar, 2021)'dan uyarlanmıştır.	11
Tablo 1.2: Farklı kanser hücrelerinde serotonerjik sistem (Karmakar, 2021)'dan uyarlanmıştır.	18
Tablo 1.3: Akış şeması.	27

SEMBOL VE KISALTMALAR LİSTESİ

5-HT	:5- Hidroksitriptamin, serotonin
5-HTTP	:5- Hidroksi triptofan
BSA	:Sığır Serum Albümini (Bovine Serum Albumin)
Ca²⁺	:Kalsiyum İyonu
CaCl₂	:Kalsiyum Klorür
CC / CRC	:Kolon Kanseri / Kolorektal Kanser
cDNA	:Komplementer DNA
DNA	:Deoksiribonükleik Asit
dNTP	:Deoksinükleotid Trifosfat
GBM	:Glioblastoma Multiforme
HCC	:Hepatoselüler Karsinom
HT-29	:İnsan Kolon Adenokarsinom Hücre Hattı
HTR1B	:5-Hidroksitriptamin Reseptör 1B
mRNA	:Mesajcı RNA
MOD-5	:Modulator 5
RNAi	:RNA Interference
SERT	:Serotonin Transporter
SLC6A4	:Solute Carrier Family 6 Member 4
SSRI	:Seçici Serotonin Geri Alım İnhibitörü
TCA	:Trisiklik Antidepresan
TPH	:Triptofan Hidroksilaz
TPH1	:Triptofan Hidroksilaz 1

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı kapsamında hazırlanmıştır. Çalışmada, insan SLC6A4 geni ile *Caenorhabditis elegans*'ta bulunan ortoloğu MOD-5'in karşılaştırmalı analizi yapılmış; serotonerjik sistemin evrimsel korunumu ve kanserle ilişkili sinyal yollarındaki rolü biyoinformatik yaklaşımlarla değerlendirilmiştir. Elde edilen bulguların, hem temel bilimler alanına katkı sağlaması hem de gelecekte yapılacak deneysel ve klinik çalışmalara ışık tutması hedeflenmiştir.

Tez sürecim boyunca bilgi ve deneyimlerini, her aşamada yol gösterici desteğini ve yapıcı eleştirilerini esirgemeyen değerli tez danışmanım Doç. Dr. Sümeyye AYDOĞAN TÜRKOĞLU'na içten teşekkürlerimi sunarım. Akademik bakış açısı, sabrı, disiplinli yaklaşımı ve teşvik edici tutumu, bu çalışmanın bilimsel açıdan sağlam temellere oturmasında ve sağlıklı bir şekilde tamamlanmasında büyük rol oynamıştır.

Lisansüstü eğitimim süresince bilgi, deneyim ve katkılarıyla akademik gelişimime destek olan Balıkesir Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü öğretim üyeleri; Prof. Dr. Serap BEYAZTAŞ UZUNOĞLU, Prof. Dr. Feray KÖÇKAR, Prof. Dr. Serap DOĞAN, Prof. Dr. Hatice YILDIRIM, Doç. Dr. Esra TOKAY, Doç. Dr. Mehmet Emin DİKEN, Doç. Dr. Begümhan YILMAZ KARDAŞ, Dr. Öğr. Üyesi Selma ÇELEN YÜCETÜRK, Dr. Öğr. Üyesi Nelin HACIOĞLU ve Arş. Gör. Dr. Serhad ONAT'a teşekkürlerimi sunarım. Sağladıkları akademik birikim, eleştirel düşünme becerisi ve bilimsel perspektif, bu çalışmanın oluşum sürecine önemli katkılar sunmuştur.

Bilimsel birikimi, kıymetli görüşleri ve destekleyici yaklaşımıyla tez sürecime katkı sağlayan Dr. Fatma POYRAZLI'ya ve bu süreçte bilgi paylaşımı, teknik desteği ve emeğiyle katkıda bulunan çalışma arkadaşım Uzm. Canberk TOPRAK'a da teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca laboratuvar ortamında birlikte çalıştığım ve deneyimlerimi geliştirmeme katkı sağlayan tüm arkadaşlarıma destekleri için minnettarım.

Lisansüstü eğitimim boyunca her zaman yanımda olan, bana güvenen ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen kıymetli aileme en içten teşekkürlerimi sunarım. Annemin ve babamın fedakârlıkları, sabırları ve koşulsuz destekleri, bu zorlu süreci tamamlayabilmemde en büyük güç kaynağım olmuştur. Ablalarımın ve abimin her zaman yanımda olduklarını hissettiren destekleri ve moral verici yaklaşımları, motivasyonumu korumamda önemli rol oynamıştır.

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi bu süreçte de sabrı, anlayışı ve desteğiyle yanımda olan sevgili eşime ayrıca teşekkür ederim. Yoğun ve zaman zaman yorucu geçen tez sürecinde gösterdiği anlayış, verdiği moral ve bana olan inancı, bu çalışmayı sürdürebilmem ve tamamlayabilmem açısından çok değerli olmuştur.

Bu süreçte bilgi paylaşımı, dayanışma ve samimi destekleriyle yanımda olan tüm arkadaşlarıma da teşekkür ederim.

Balıkesir, 2026

Gülsüm SARITAŞ

1. GİRİŞ

Serotonin (5-hidroksitriptamin, 5-HT) 60 yıl önce keşfedilmiş olmasına rağmen, serotonin ve reseptörlerinin incelenmesi, kardiyovasküler, dolaşım, sindirim ve üreme sistemleri ile merkezi sinir sistemi (CNS) dahil olmak üzere hemen hemen tüm önemli organ sistemlerinde tıbbi öneme sahip nörotransmitterdir (Berger, 2009). Serotoninin sinaptik aralıktaki düzeyini belirleyen en önemli faktörlerden biri, presinaptik sinir terminallerinde bulunan serotonin taşıyıcı proteinidir (SERT). Memelilerde bu proteini kodlayan gen SLC6A4, serotoninin geri alımını sağlayarak sinaptik iletim süresini sınırlar ve nörotransmisyonun düzenlenmesinde kritik görev üstlenir.

Model sistemlerden biri olan *Caenorhabditis elegans*, basit sinir ağı, hızlı üreme kapasitesi ve genetik olarak manipülasyona uygun yapısı sayesinde nörobiyolojik mekanizmaların araştırılmasında sıkça kullanılan bir organizmadır. *C. elegans*' ta SERT homologu olan MOD-5 geni, memeli SLC6A4 geninin fonksiyonel karşılığı olup, benzer biçimde serotonin geri alım mekanizmasını kontrol eder.

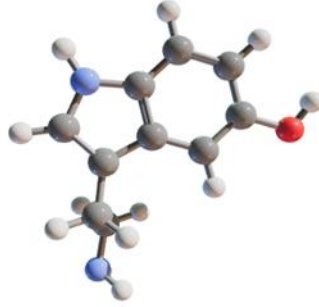
Bu çalışma, SLC6A4 ve MOD-5 genlerinin ifade paternlerini inceleyerek memeli ve nematod serotonin taşıyıcılarının karşılaştırmalı olarak analiz edilmesine odaklanmaktadır.

1.1 Serotonin Metabolizması

Serotonin (5-hidroksitriptamin, 5-HT), esansiyel bir aminoasit olan triptofandan sentezlenen, merkezi sinir sisteminde başlıca bir nörotransmitter olarak görev yapan; gastrointestinal sistemde lokal mediyatör fonksiyonuna sahip ve dolaşım sisteminde vazoaktif etkiler gösteren çok yönlü bir biyojenik monoamindir (Yabut, 2019).

Serotoninin ilk izolasyonu 1948 yılında Rapport ve çalışma arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu süreç, trombositlerde bulunan ve damar daralmasına yol açan bir maddenin tanımlanmasına yönelik uzun süreli araştırmalar sonucunda tamamlanmıştır. Maurice Rapport ve Irvine Page, yürüttükleri çalışmalar neticesinde serotoninini başarıyla karakterize etmişlerdir. Mohammad-Zadeh ve arkadaşları ise bu molekülü, Latince serum ve Yunanca tonic kelimelerinden türeterek “serotonin” olarak adlandırmıştır. Aynı dönemde İtalyan bilim insanı Vittorio Erspamer, gastrointestinal sistemde yer alan enterokromaffin hücrelerden izole ettiği ve enteramin olarak isimlendirdiği bir bileşiği

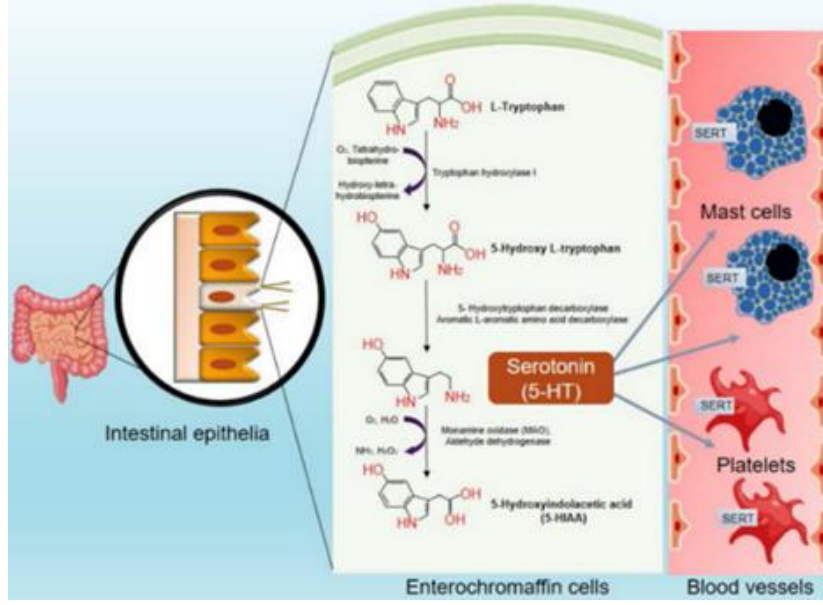
tanımlamıştır. Daha sonra Reid ve Rand, 1952 yılında serotonin ve enteramin olarak ayrı ayrı tanımlanan bu maddelerin aslında aynı molekül olan 5-hidroksitriptamin olduğunu ortaya koymuştur (Curran, 2012)



Şekil 1.1: Serotoninin moleküler yapısı (WebQC.Org, 2026)

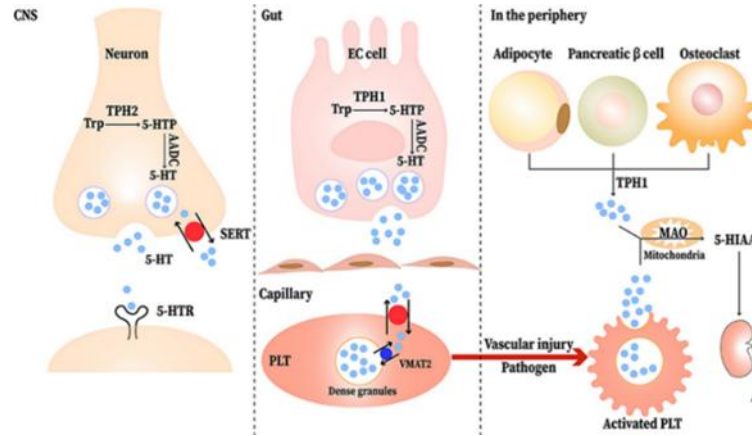
1.2 Serotonin Biyosentezi

Serotoninin büyük bir bölümü (%95'ten fazlası) gastrointestinal sistemde yer alan enterokromafin hücrelerde sentezlenmekte ve burada bağırsak motilitesinin düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Kalan yaklaşık %5'lik kısmı ise merkezi sinir sisteminde presinaptik serotonerjik nöronlarda, epifiz bezinde ve katekolaminerjik nöronlarda üretilmektedir. Plateletlerde serotonin sentezi gerçekleşmemesine rağmen, merkezi sinir sistemi dışındaki en önemli serotonin depoları plateletlerdir. Plateletler, enterokromafin hücrelerden salınan serotoninin serotonin taşıyıcı proteini (SERT) aracılığıyla hücre içine alarak dolaşımdaki serotonin düzeylerinin düşük tutulmasına katkı sağlamaktadır. Doku hasarı durumunda ise depolanan serotonin, platelet agregasyonu ve pıhtı oluşumuna destek olmak amacıyla hasarlı bölgeye salınmaktadır. Serotoninin kontrollü salınımını sağlamak üzere hücre içinde organellerde depolandığı bildirilmektedir (Curran, 2012).



Şekil 1.2: Periferik serotonin sentezi (Karmakar, 2021)

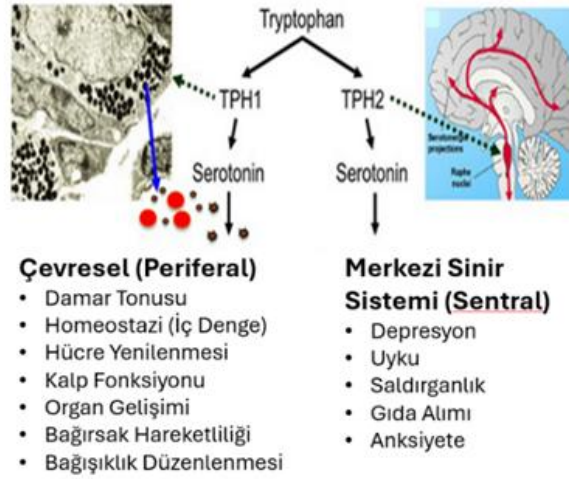
Serotonin sinyal iletiminde görev alan temel yapılardan biri serotonin geri alım taşıyıcı proteini olup serotonin taşıyıcı (SERT) veya 5-hidroksitriptamin taşıyıcı (5-HTT) olarak adlandırılmaktadır. İnsanlarda bu taşıyıcı protein, 17q11–q12 kromozomal bölgesinde lokalize olan SLC6A4 geni (şekil 1.16) tarafından kodlanmakta ve serotoninin sinaptik aralıktan presinaptik hücre içine taşınmasını sağlayan bir monoamin taşıyıcı protein olarak işlev görmektedir (Çınar, 2020)



Şekil 1.3: Serotonin sentezine yakından bakış (Karmakar, 2021)

Serotonin geri alım taşıyıcı proteini; Na⁺/Cl⁻ bağımlı serotonin taşıyıcı, serotonin taşıyıcısı-1 ve çözünen taşıyıcı ailesi 6 (nörotransmitter taşıyıcı) üye 4 olarak da adlandırılmaktadır. SLC6A4 geninin promotör bölgesinde yer alan tekrar uzunluğuna

sahip bir polimorfizmin, serotoninin geri alım hızını etkilediği bildirilmiştir. Bu genetik varyasyonun; ani bebek ölüm sendromu, Alzheimer hastalarında gözlenen agresif davranışlar, travma sonrası stres bozukluğu ve duygusal travmaya maruz kalan bireylerde depresyona yatkınlık ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Çınar, 2020).

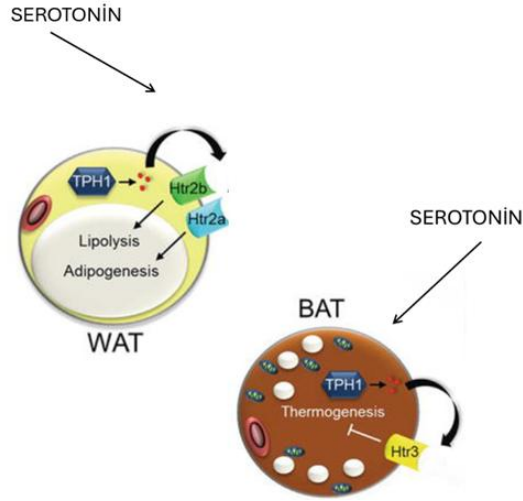


Şekil 1.4: Serotonin Biyosentezi: Periferik ve merkezi serotoninin etkileri (Walther, 2003)

1.3 Periferik Sistemde Sentezlenen Serotoninin İşlevleri

1.3.1 Beyaz yağ dokusu'nda (WAT) Serotoninin Rolü

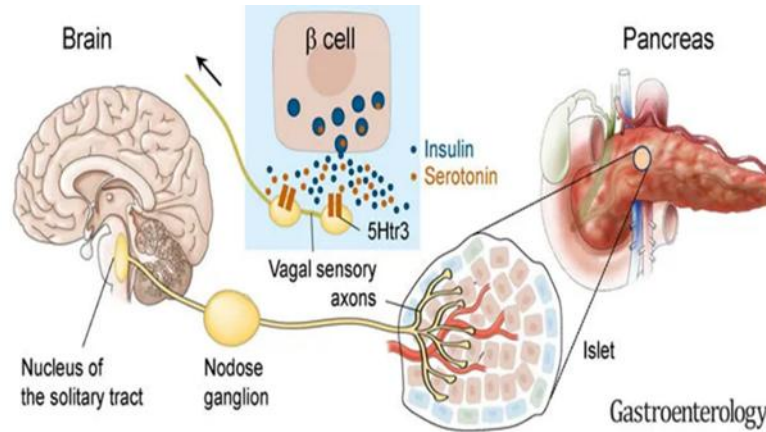
Glikoz ve lipidler için önemli bir depodur. Bağırsak EC hücreleri ve mikrobiyomunun yanı sıra, serotonin de WAT tarafından sentezlenebilir (Şekil 1.5). Son kanıtlar obez farelerin WAT'ında Tph1 gen ekspresyonunun ve serotonin içeriğinin arttığını göstermektedir. Serotonin sadece WAT'ın değil aynı zamanda kahverengi yağ dokusu (BAT)'ın da enerji homeostazisinde rol oynar (Yabut, 2019).



Şekil 1.5: Serotonin ve yağ doku (Watanabe, 2017)

1.3.2 Pankreasta Serotoninin Rolü

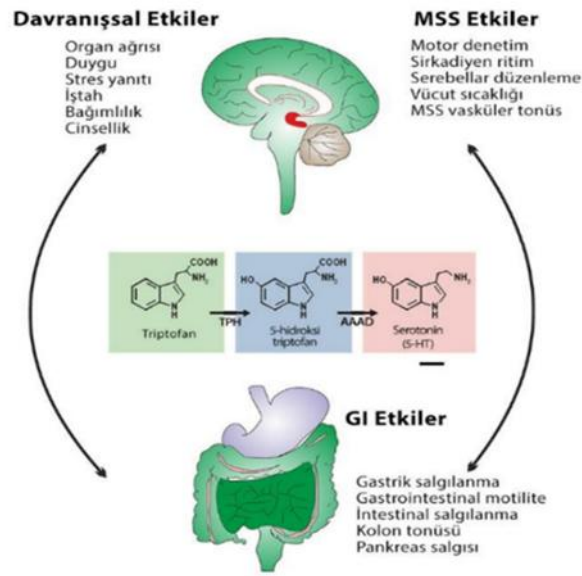
Pankreas adacıkları, sırasıyla glukagon ve insülin salgılayan α ve β hücrelerinden oluştuğu için glikemik kontrol açısından önemlidir. Gebelik sırasında pankreas β hücreleri, sırasıyla 5-HT_{2B} ve 5-HT₃ reseptör sinyalleme yoluyla β hücre kütlelerini ve glikoz uyarılı insülin salgılanmasını artıran 5-HT sentezler. Ek olarak, 5-HT, diyetle indüklenen insülin direnci durumunda insülin salgılanmasını düzenler ve perinatal β hücre çoğalmasını uyararak yetişkin β hücre kütlelerini kontrol eder (Parkı, 2021). Pankreas adacıkları, 5-HTP ile tedavi edildiklerinde serotonin üretimini artırır, bu da serotonin sentezi için doğal bir kapasiteye işaret eder. Serotonin ve insülin, salgı β -granüllerinde aynı yerde bulunur ve glikoz tarafından uyarıldığında birlikte salgılanır (Yabut, 2019).



Şekil 1.6: Serotonin ve pankreas (Miller School Of Medicine, 2025)

1.3.3 Bağırsak Hareketliliğinde Serotonin Rolü

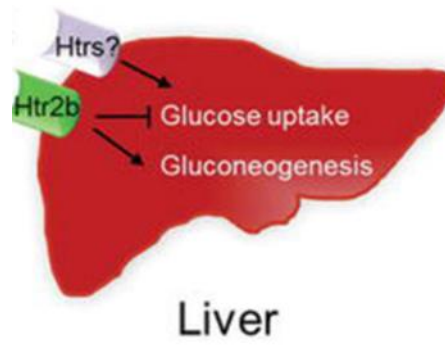
Vücuttaki serotoninin yaklaşık %95'i, bağırsak bakterileri tarafından triptofandan sentezlenen 5-hidroksitriptamin (5-HT) formunda bulunmakta olup, özellikle peristaltik hareketlerin düzenlenmesi ve duygusal modülasyon süreçlerinde kritik bir rol oynamaktadır. Bunun yanı sıra 5-HT; stres yanıtı ve bağımlılık gibi davranışsal süreçlerin düzenlenmesinde, sirkadiyen ritim ve serebellar fonksiyonlar başta olmak üzere merkezi sinir sistemi üzerinde ve ayrıca gastrik ile pankreatik sekresyonların kontrolü gibi gastrointestinal işlevlerde etkili olduğu bildirilmektedir (Aydın, 2021).



Şekil 1.7: Bağırsak-beyin eksenini ve serotonin metabolizması (Aydın, 2021)

1.3.4 Karaciğerde Serotonin Rolü

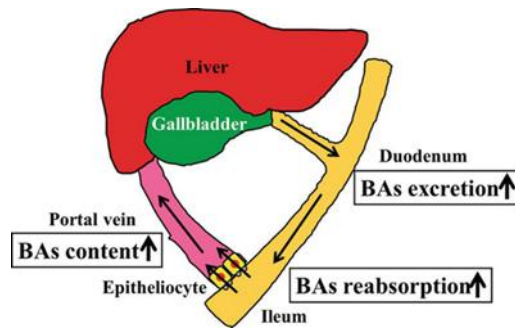
Sumara ve ark., serotonin tarafından HTR2B aktivasyonunun, karaciğer glikoneogenezini teşvik ettiğini ve glikoz alımını inhibe ederek, açlık dönemlerinde kan şekeri seviyelerini artırdığını bulmuşlardır. Ek olarak bağırsaktan türetilen Tph1 serotonin sentezinin bloke edilmesinin fareleri diyet kaynaklı insülin direncinden koruduğunu gösterdiler. Bu gözlemlere dayanarak hepatositlerdeki serotonerjik sinyalleme glukoz üretimini düzenlediği görülmektedir (Yabut, 2019).



Şekil 1.8: Karaciğer ve serotonin (Watanabe, 2017)

1.3.5 Safra Kesesinde Serotonin Rolü

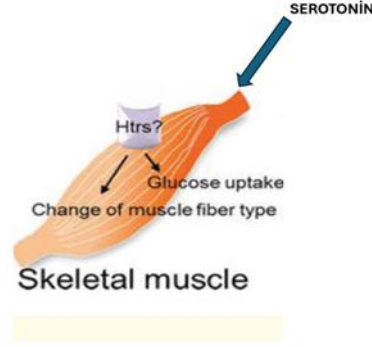
Periferik serotonin, safra asitlerinin safra kesesinden duodenuma atılmasını, safra asitlerinin ileumda yeniden emilmesini ve portal ven plazmasındaki safra asitleri konsantrasyonunun yükselmesini sağlar (Yabut, 2019).



Şekil 1.9: Safra asidi döngüsünün periferik serotonin tarafından düzenlenmesi (Watanabe, 2017)

1.3.6 Kalp Kası ve İskelet Kasında Serotonin Rolü

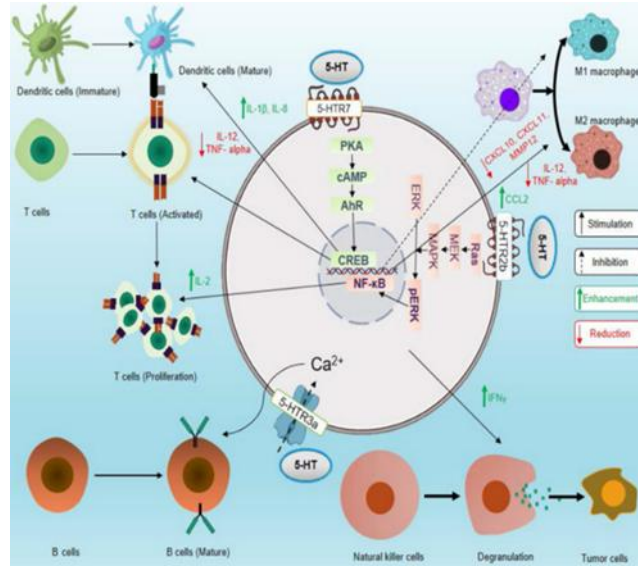
Serotoninin sırasıyla iskelet ve kalp kasında metabolik ve gelişimsel etkileri vardır (Şekil 1.10). Kültürlenmiş miyotüplerde ve sıçan soleus kasında serotonin, potansiyel olarak HTR2A'nın aktivasyonu yoluyla glikoz alımını artırır (Yabut, 2019).



Şekil 1.10: İskelet kası ve serotonin (Watanabe, 2017)

1.3.7 Bağışıklık Sisteminde Serotonin Rolü

Serotonin sinyali, T hücrelerinin aktivasyonunu ve çoğalmasını uyarır, dendritik hücrelerin (DC) olgunlaşmasını teşvik eder, B hücresi gelişimini destekler, NK hücrelerinin sitotoksitesini artırır ve makrofajların M2 fenotipine doğru polarizasyonunu uyarır. Öte yandan serotonin sinyali, M1 makrofaj polarizasyonunu inhibe eder (Yabut, 2019).



Şekil 1.11: Serotonin sinyalleşmesinin bağışıklık sisteminin farklı bileşenleri üzerindeki etkileri (Karmakar, 2021)

1.4 Merkezi Sinir Sisteminde Sentezlenen Serotoninin İşlevleri

Serotonin (5-HT), beyinde hayati öneme sahip olan limbik sistemini etkilemektedir.

Limbik sistem duygu, davranış, isteklendirme, uzun süreli hafıza ve koku almak dâhil olmak üzere çeşitli işlevleri desteklemektedir (Yabut, 2019).

1.4.1 İştah ve Besin Alımında Serotonin Rolü

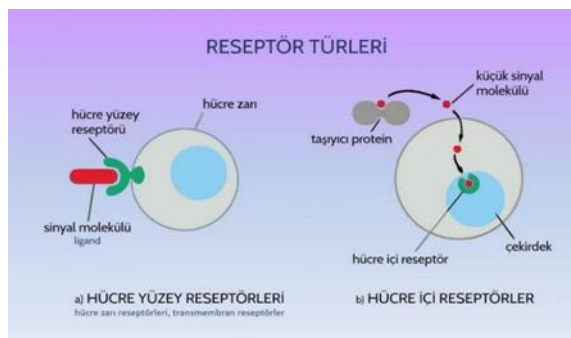
Genel olarak, merkezi serotonerjik sistemler omurgalı türlerinde beslenme davranışlarını bastırır ve merkezi serotoninin tükenmesi kemirgenlerde hiperfajiye ve vücut ağırlığı artışına neden olur. Serotoninin iştah üzerindeki baskılayıcı etkilerinin öncelikle HTR2C tarafından yönlendirildiği görülmektedir (Yabut, 2019).

1.4.2 Enerji Alımının Düzenlenmesinde Serotonin Rolü

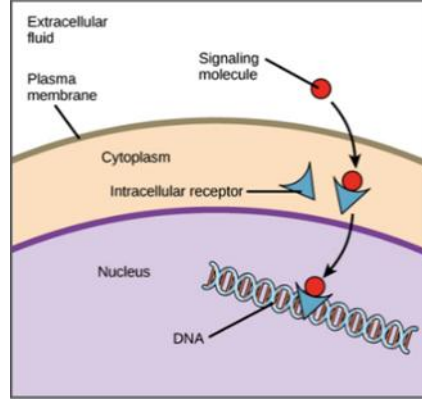
İştahın ve enerji alımının düzenlenmesine ek olarak, merkezi serotonin de enerji harcamasının arttırılmasında rol oynar (Yabut, 2019).

1.5 Serotonin Reseptörleri

Reseptörlerin asıl işlevi biyolojik kompartımanlar arasında iletişimi sağlamaktır. En önemlisi de hücre dışından hücre içine bilgi iletimini gerçekleştirmesidir. Yani hücre içine giremeyen moleküllerin varlığının ve konsantrasyonunun hücre içine bildirilmesidir (Kırtıl Y, 2023). Reseptörler hücre içi ve hücre yüzey reseptörleri olarak ikiye ayrılmaktadır. Bu reseptörler hücre içi veya sitoplazmik olarak da bilinir. Bir hücrenin sitoplazmasında bulunurlar ve sıklıkla hayvan plazma hücre zarının lipid çift katmanını geçebilen hidrofobik ligandlar tarafından hedeflenirler (Alberts, 2002).

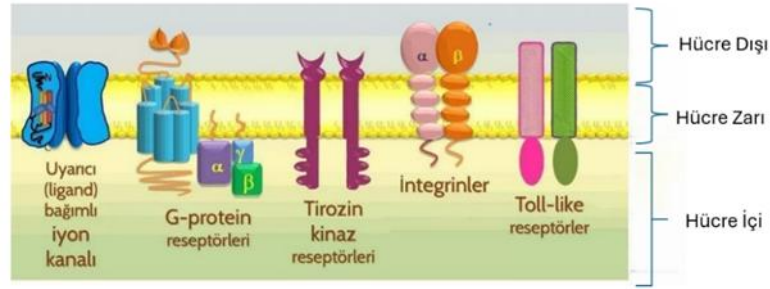


Şekil 1.12: Reseptör türleri (Özdoğan, 2025)



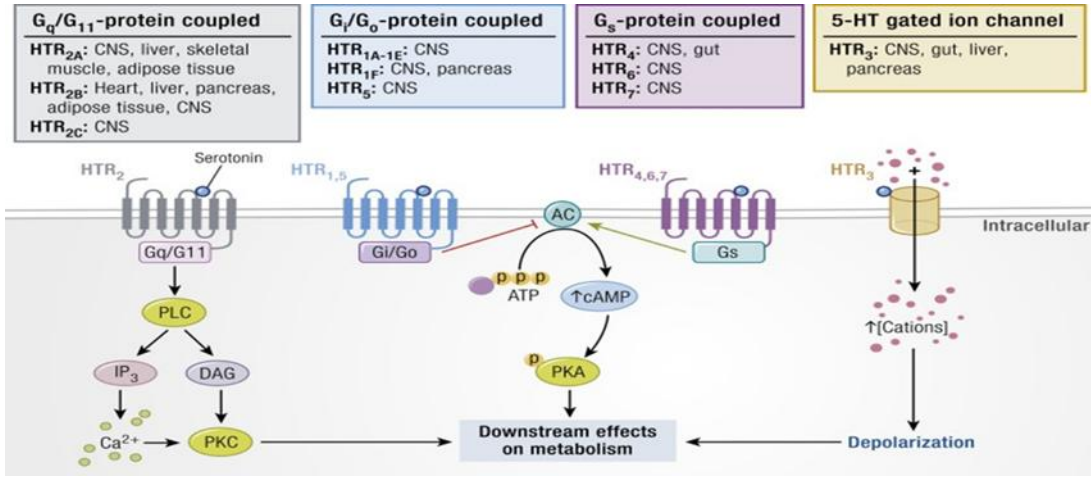
Şekil 1.13: Hücre içi reseptörlerinin çalışması (Charles Sturt Universty, 2025).

Bu reseptörlere aynı zamanda transmembran reseptörleri de denir. Bunlar hücrelerin yüzeyinde bulunan ve plazma zarını kaplayan proteinlerdir. Kendileri plazma membranından geçemeyen ligandlara bağlanırlar. Bunlar genellikle hidrofilik ligandlardır veya geçemeyecek kadar büyük olanlardır (Alberts, 2002).



Şekil 1.14: Hücre yüzey reseptörleri (Özdoğan, 2025).

Serotonin reseptörleri kompleks genler tarafından kodlanır. İnsanda serotonin reseptörlerinin sınıflandırılmasına bakıldığında 14 tipi olduğu görülür. 5-HTR1, 5-HTR2... 5-HTR7 olmak üzere sınıflara ayrılır. Bu sınıflarında kendi içinde benzerlik göstermesiyle 5-HTR1D, 5-HTR1B... gibi alt sınıfları vardır. Bu sınıflandırma reseptör agonistleri kullanılarak yapılan çalışmalar sonucunda oluşturulmuştur. Serotonin reseptörlerinden altısı G-protein bağlı reseptör iken 5-HTR3 ligand kapılı Na^+/K^+ iyon kanalı içermesi bakımından diğerlerinden farklıdır (Çınar, 2020). Yedi farklı serotonin reseptörü (HTRx) ailesi, dokuya özgü dağılımlara sahiptir ve dört farklı aşağı yönlü sinyal yolu halinde gruplandırılabilir.



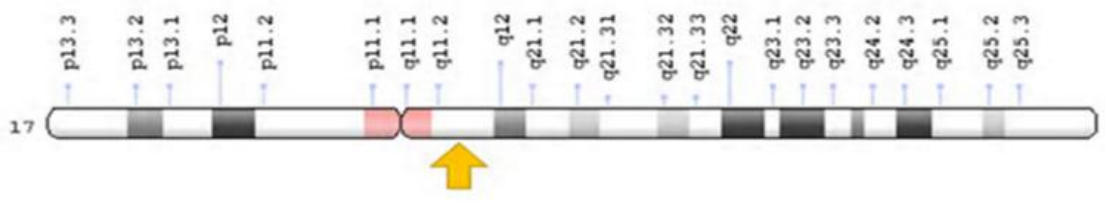
Şekil 1.15: Serotonin reseptör ekspresyonu ve sinyal yolları (Yabut, 2019)

Tablo 1.1: Serotonin reseptörlerinin bulunduğu bölgeler ve işlevleri (Karmakar, 2021)'dan uyarlanmıştır

RESEPTÖR ALTÜNİTESİ	SİNYAL MEKANİZMASI	VÜCUTTA BULUNDUĞU YER	ETKİSİ
5-HT1A	Gi, ↓ cAMP	Rafhe Çekirdeği ve Beyin Hafıza Merkezi (Hipokampus)	Uykuyu, beslenmeyi ve kaygıyı düzenler
5-HT1B	Gi, ↓ cAMP	Substantia nigra (SN) ya da Kara madde, globus pallidus, Bazal gangliyonlar	Nöronal inhibisyon, davranışsal değişiklikler
5-HT1D	Gi, ↓ cAMP	Beyin	Damar Daralması (Vasoconstriction)
5-HT1E	Gi, ↓ cAMP	Korteks, Hipokampus	Hafıza
5-HT1F	Gi, ↓ cAMP	Globus Pallidus (Bazal gangliyonların temel çıkış bölgesidir.), Putamen Kabuk	Anksiyete, Damar Daralması
5-HT2A	Gq, ↑ IP3	Plaketler ve Beyin Korteksi (Serebral Korteks)	Hücrel uyarım, kas kasılması
5-HT2B	Gq, ↑ IP3	Mide	İştah
5-HT2C	Gq, ↑ IP3	Substantia nigra (SN) ya da Kara madde, Hipokampus	Anksiyete
5-HT3	Na ⁺ -K ⁺ İyon kanalı	Area Postrema (beyin sapındaki kusma merkezi), Enterik Sinir Sistemi (Ağızdan başlayıp bağırsaklara kadar uzanan sinir sistemidir.)	Kusma
5-HT4	Gs, ↑ cAMP	Cortex, Düz Kas	Gut Metabolizması
5-HT5A,B	Gi, ↓ cAMP	Beyin	Hareket, Uyku
5-HT6	Gs, ↑ cAMP	Beyin	Bilişsellik, Öğrenme
5-HT7	Gs, ↑ cAMP	Beyin	Ruh Hali, Hafıza, Uyku

1.6 SLC6A4 Geni ve Kodladığı Protein: Serotonin Taşıyıcı (SERT)

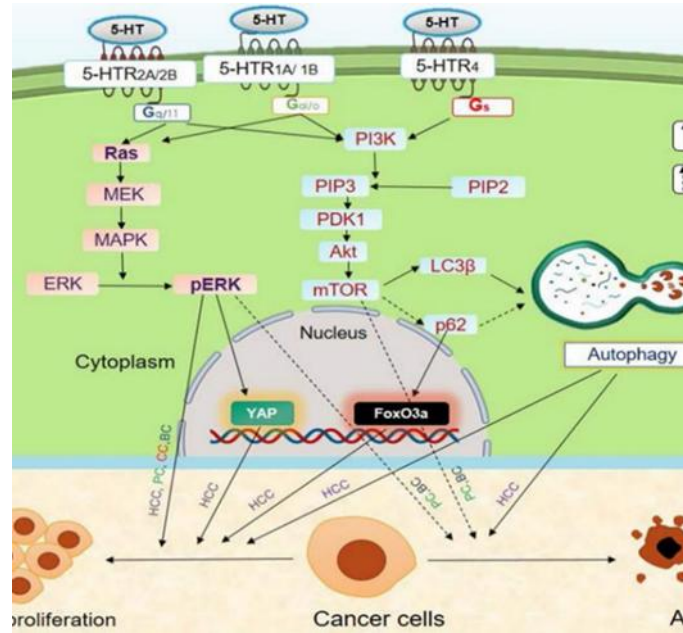
SLC6A4 geni, nörotransmitterlerin sinaptik boşluklardan presinaptik nöronlara geri alınması yoluyla serotoninin etkisini sonlandıran serotonin taşıyıcısını (5-HTT) kodlar. Serotonin geri alım inhibitörü antidepresanlar (örneğin, SSRI'lar, SNRI'ler, vortiksetin ve vilazodon) doğrudan serotonin taşıyıcısına bağlanarak serotoninin geri alımını bloke eder. En çok çalışılan varyant, SLC6A4 promoter bölgesindeki (rs4795541/5-HTTLPR) varyantıdır (Şekil 1.16). SLC6A4 genotipi antidepresanlarla ilişkiler açısından yaygın olarak çalışılırken, epigenetik modeller de araştırılmış ve 5-HTT ekspresyonuna ve beyin aktivitesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Bousman, 2023)



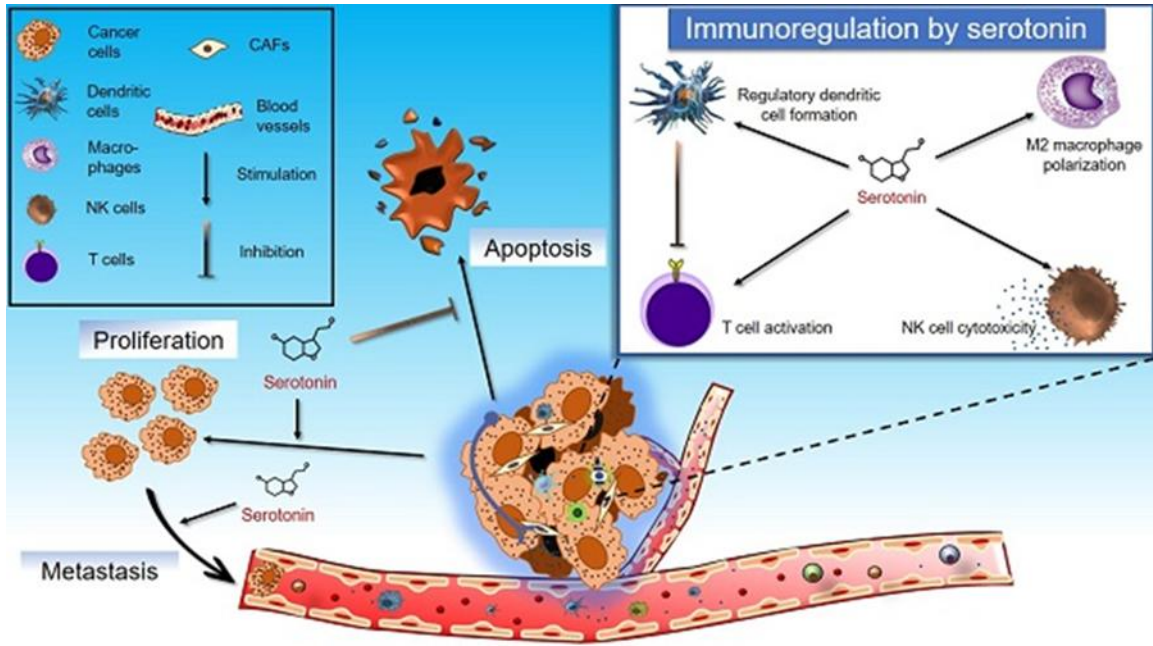
Şekil 16: SLC6A4 geni (Çınar, 2020)

1.7 Serotonin ve Kanser

“Asla iyileşmeyen bir yara” olarak kabul edilen kanser, anormal hücrelerin kontrolsüz çoğalması ve bağışıklık sisteminin anormal tanınmasıyla karakterizedir. Serotonin sinyalleşmesinin kanser üzerindeki etkileri: Serotonin sinyali, MAPK ve PI3K/Akt sinyal yoluyla kanser hücrelerinin proliferasyonunu uyararak ve apoptozisini inhibe ederek tümörün ilerlemesini destekler (Karmakar, 2021).



Şekil 1.17: Serotonin sinyalleşmesinin kanser üzerindeki etkileri (Karmakar, 2021)

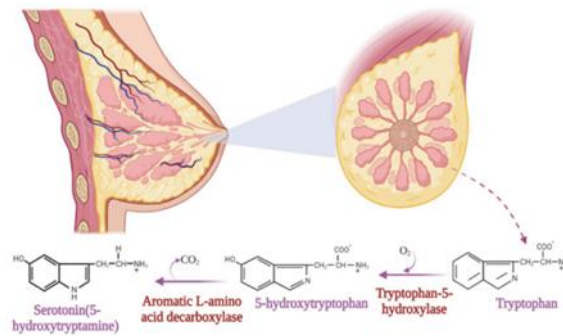


Şekil 1.18: Serotonin ve kanser (Karmakar, 2021)

Serotonin metabolizmasında görevli olan reseptörlerin farklı kanser hücrelerinde ifadelerinin değiştiği gözlemlenmiştir.

1.7.1 Meme Kanserinde Serotonin Yolu

Meme kanseri, az sayıda prognostik belirteç ile dünya çapında kadınlarda en sık görülen kanser türüdür (Barmanbay, 2022). İnsan meme kanseri hücre hatları MCF7 ve T47D'de yüksek düzeyde TPH1 ekspresyonu, bunların büyük miktarda serotonin sentezleyebildiğini göstermektedir. MCF7 ve insan meme kanseri dokuları, serotonin reseptör alt tipi 5-HTR2A ve 5-HTR3A'yı eksprese eder (Karmakar, 2021; Barmanbay, 2022).



Şekil 1.19: Serotoninin meme kanseri ilerlemesi üzerindeki etkilerini (Barmanbay, 2022)

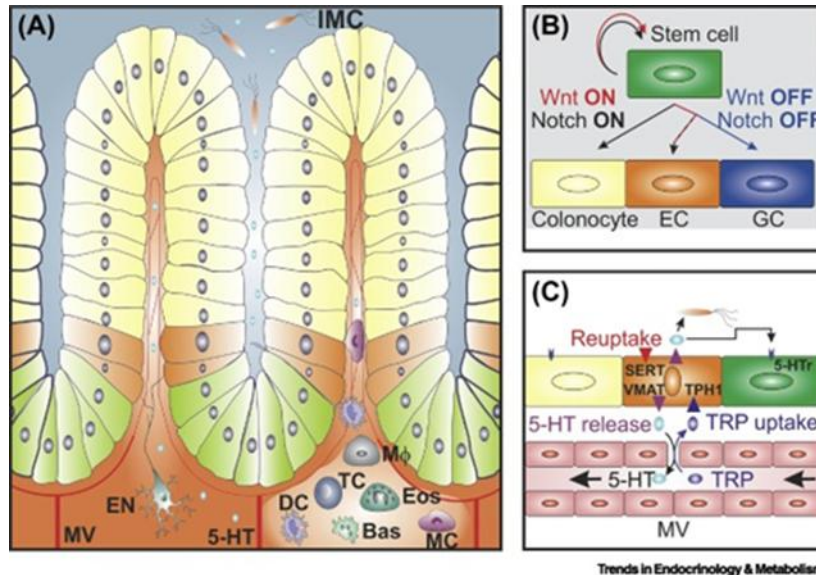
1.7.2 Akciğer Kanseri Serotonin Yolu

Klinisyenler, depresyonu olan akciğer adenokarsinomu hastalarında, depresyonu olmayan kişilerle karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek serum serotonin düzeyleri gözlemlediler. Ek olarak, 5-HTR1A ve 5-HTR1B gibi serotonin reseptör alt tiplerinin tümör dokularındaki ekspresyonu da depresyon hastalarında daha yüksektir. Lewis akciğer kanseri (LLC) allograft modelinde, periferik serotonininden yoksun fareler, tümör büyümesinde önemli ölçüde azalma gösterdi. Bu da serotoninin akciğer kanserinin ilerlemesinde rol oynadığını göstermektedir (Karmakar, 2021).

1.7.3 Kolon Kanseri Serotonin Yolu

Kolon kanserinde serotonin, kanser hücresi proliferasyonunu ve anjiyogenezi modüle eder ve bu da sonuçta tümörün ilerlemesiyle sonuçlanır. Kolon kanseri hastalarında serum serotonin seviyeleri yüksektir bulunmuştur (Karmakar, 2021).

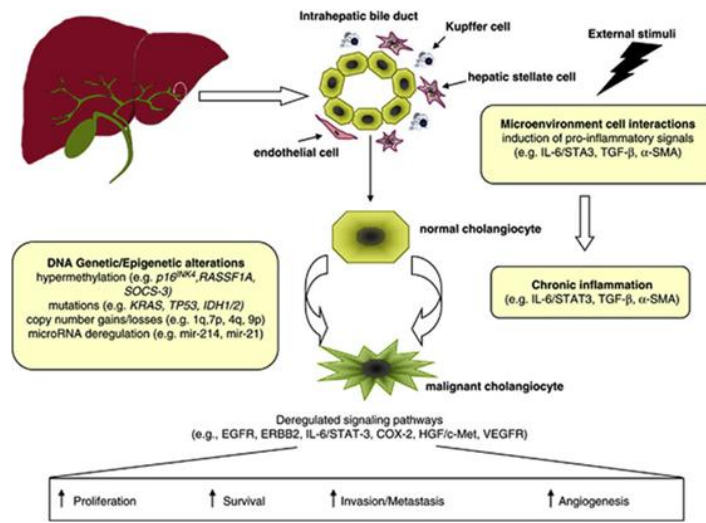
İnsan kolon kanseri hücre hattı HT29 aynı zamanda 5-HTR1, 5-HTR3 ve 5-HTR4'ün ekspresyonunu da gösterir. Serotonin, esas olarak 5-HTR1A, 5-HTR1B, 5-HTR3 ve 5-HTR4 yoluyla HT29 hücreleri üzerinde mitojenik ve anti-apoptotik etkiler gösterir. Kolon kanserinde serotonin, kanser hücresi çoğalmasını ve sonuçta tümörün ilerlemesiyle sonuçlanan anjiyogenezi modüle eder (Karmakar, 2021).



Şekil 1.20: Kolon Kanseri (Kannen, 2020)

1.7.4 Kolanjiyokarsinom'da (Safra Kanalı Kanseri) Serotonin Yolu

Kolanjiyokarsinom en yıkıcı intrahepatik ve ekstrahepatik safra kanalı kanserlerinden biridir. Sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında kolanjiyokarsinom hastalarının serumunda daha yüksek serotonin seviyeleri tespit edilmiştir. Bunu da, kolanjiyokarsinom hücre hattının serotonin biyosentetik enziminin (TPH1) daha yüksek ve daha düşük ekspresyonunu göstermesiyle açıklanabilir. Serotonin, 5-HTR1A, 5-HTR2A, 5-HTR2B, 5-HTR4 ve 5-HTR6 sinyalleme yoluyla kolanjiyokarsinom hücrelerinin büyümesini ve çoğalmasını destekler. Kolanjiyokarsinom hücreleri serotonin sentezleyebildiği gibi serotonine de otokrin yanıt verebilir (Karmakar, 2021).



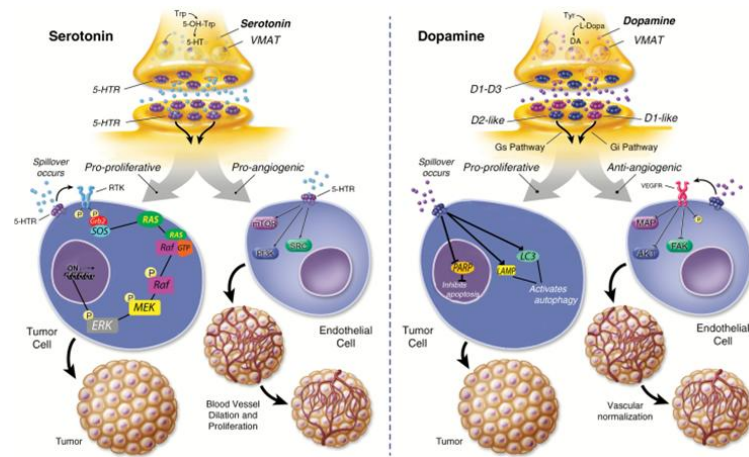
Şekil 1.21: Kolanjiokarsinom (Safra Kanalı Karsinomu) (Sia, 2013)

1.7.5 Hepatoselüler Kanserde (HCC) Serotonin Yolu

Hepatoselüler kanser (HCC) hücreleri, insan HCC hücre hatları Huh7 ve HepG2'nin hücre sağkalımını ve proliferasyonunu doza bağımlı bir şekilde desteklediği bulunmuştur. Serotonin bu etkileri 5-HT reseptörleri aracılığıyla gerçekleşir. HCC'li 176 hasta arasında, 5-HT1B ve 5-HT2B reseptörleri sırasıyla %32 ve %35 oranında ifade edilmiştir. Kimyasalla indüklenen HCC fare modelinde de serum serotonin seviyelerinin yukarı regüle edildiği gösterilmiştir, bu da HCC'nin prognozu ve ilerlemesinde rol oynadığını düşündürmektedir. 5-HTR1B ve 5-HTR2B sinyal yolları aracılığıyla serotonin, MAPK yoluyla ERK1/2'nin fosforilasyonu ile serumdan yoksun koşullar altında Huh7 ve HepG2 insan HCC hücre hatlarının proliferasyonunu destekler (Karmakar, 2021).

1.7.6 Glioblastomada Serotonin Yolu

Beyindeki glial hücrelerin kanseri olan Glioblastoma, en ölümcül kanser türlerinden biridir. Depresyon ve psikolojik sıkıntı, glioblastoma ilerlemesi açısından daha kötü sonuçlarla ilişkilidir. Glioblastoma hücre hatları 5-HTR 7 reseptör alt tipini eksprese eder. Glioma dokuları ayrıca 5-HTR5A alt tipini de eksprese eder, ancak 5-HTR5A'nın ekspresyonu, yüksek dereceli gliomada düşük dereceli gliomaya göre daha düşüktür (Karmakar, 2021). Mikroortamdaki sinaptik monoaminler, tümör büyümesini ve anjiyogenezi etkileyebilir. GBM hücreleri oldukça spesifik bir mikroortamda bulunur ve birçok salgılanan faktöre maruz kalır. Sinaptik yarıktan hem dopamin hem de serotoninin taşınması hem GBM hücreleriyle hem de çevredeki endotel hücreleriyle etkileşime girebilir. Bu hücrelerin monoaminler için reseptörler ifade ettiği göz önüne alındığında, bu reseptörlerin aktivasyonu, GBM'nin başlangıcını ve ilerlemesini ve ayrıca endotel hücre davranışını etkileyebilir. Her bir nörotransmitter için çok çeşitli reseptörler mevcuttur; bu da her tümörün ve çevresindeki stromal hücrelerin spesifik bileşiminin, bu nörotransmitterlerin etkisinde kritik bir rol oynayacağı anlamına gelir. Örneğin, bazı serotonin reseptörlerinin MAPK sinyalleşmesini ve gen ekspresyonunu etkileyebildiği gösterilmiştir. Benzer şekilde, dopamin reseptörlerinin aktivasyonu, tümör hücrelerinin hücre döngüsü durumunu değiştirebilir. Bu nedenle, mikroortamda bulunan monoaminler, GBM ilerlemesinde önemli bir oyuncu ve potansiyel yeni bir terapötik hedef olabilir (Caragher, 2018).



Şekil 1.22: Glioblastoma üzerine serotoninin etkisi (Caragher, 2018)

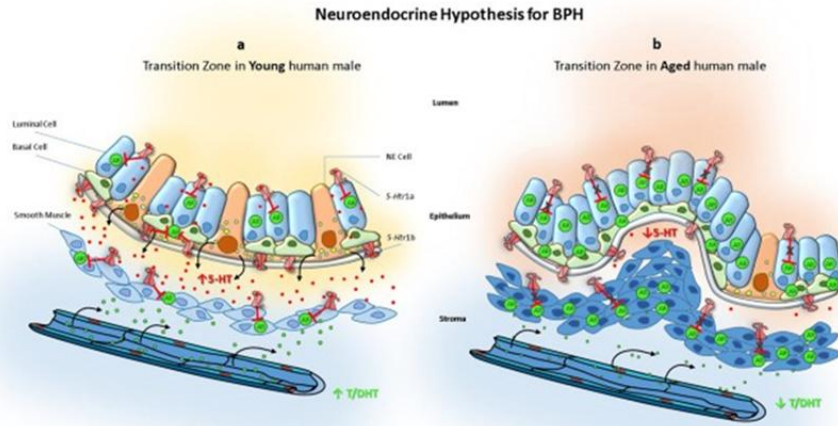
1.7.7 Mesane Kanserinde Serotonin Yolu

İnsan mesane kanseri hücre dizisi HT1376 ve insan mesane kanseri dokularında farklı serotonin reseptör alt tiplerinin eksprese edildiği bulunmuştur. Serotonin, mitojenik bir

etki gösterir ve HT1376 hücrelerinin proliferatif potansiyelini 5-HTR1A yoluyla ve daha güçlü bir şekilde 5-HTR1B aracılığıyla artırır. Sonuç olarak, idrar kesesi kanserinde 5-HTR1B antagonistlerinin kullanılması terapötik bir alternatif olabilir (Karmakar, 2021).

1.7.8 Prostat Kanseri Serotonin Yolu

Prostat kanseri (PCa), dünya çapında yüksek ölüm oranına sahip önemli bir malignitedir. PCa'nın büyük çoğunluğu androjen reseptörünü (AR) ifade eden adenokarsinom (yani prostat adenokarsinomu olarak teşhis edilirken, %1'den azı AR negatif olan de novo nöroendokrin PCa olarak teşhis edilir (Tang, 2025). Androjene duyarlı (PC3, DU145) ve androjene duyarlı olmayan (LCaNP, hPCP) prostat kanseri hücre hatlarında çeşitli serotonin reseptör alt tipleri eksprese edilir. Serotonin, insan prostat kanseri hücre hatlarının (PC3, DU-145, LCaNP, hPCP, vb.) büyümesini ve çoğalmasını uyarır. Serotonin, 5-HTR1A, 5-HTR1B, 5-HTR2B ve 5-HTR4 sinyallemeye yoluyla prostat kanseri hücreleri üzerindeki proliferatif etkisine aracılık eder. Serotonin, prostat kanserinde mitojenik MAPK/ERK ve PI3K/Akt sinyal yollarını modüle eder ve PC-3 prostat kanseri hücre hattında MAPK yoluyla ERK1/2'nin fosforilasyonunu uyarır (Karmakar, 2021).



Şekil 1.23: Prostat kanseri (Carvalho-Dias, 2017)

1.7.9 Yumurtalık Kanseri Serotonin Yolu

5-HTR1A, 5-HTR1B, 5-HTR2B ve 5-HTR4, yumurtalık malignitelerinin yanı sıra normal yumurtalıkta da eksprese edilir. Yapılan bir çalışmada bu reseptörlerin iyi huylu ve invaziv olmayan tümör formlarında aşırı eksprese edildiğini, oysa bu reseptörlerin

ekspresyonunun over tümörlerinin daha invazif formlarında aşağı regüle edildiğini bulmuşlardır. Tümör bölümlerine ek olarak, farklı yumurtalık kanseri hücre hatları ayrıca 5-HTR1A, 5-HTR1B, 5-HTR1D'nin aşırı ekspresyonunu gösterir. Ancak normal yumurtalık hücreleriyle karşılaştırıldığında yalnızca SW626, UWB1.298 ve CaOV3 hücre hatları 5-HTR2B'nin aşırı ekspresyonunu gösterir (Karmakar, 2021).

1.7.10 Melanomada serotonin Yolu

Yapılan bir çalışmada metastatik uveal melanom hücre hattında 5-HTR2B'nin bu düzensiz ekspresyonunun temel olarak proteozomun hücrelerde 5-HTR2B'yi parçalayamamasından kaynaklandığını ortaya çıkardı. İnsan derisi melanom hücre hatları IPC-298, 5-HTR2A, 5-HTR2B ve 5-HTR2C'nin yapısal bir ifadesini gösterir. Bu çalışmada diğer çalışmaların aksine serotoninin, melanom hücre çoğalmasının radyasyona bağlı inhibisyonunu arttırdığını gösterilmiştir (Karmakar, 2021).

Tablo 1.2: Farklı kanser hücrelerinde serotonerjik sistem (Karmakar, 2021)'dan uyarlanmıştır

Kanser türü	Kullanılan modeller	Serotonin reseptörü (5-HTR) alt tipleri ifade edildi
Hepatoselüler kanser	İnsan hepatoselüler karsinom hücre çizgileri (Huh7 ve HepG2), insan HCC dokuları ve fare ksenograft modelleri.	1A, 1B, 2B, 7
Prostat kanseri	Prostat kanseri hücre dizileri (PC3, DU-145 ve LCaNP) ve insan prostat kanseri dokusu.	1A, 1B, 1D, 2A, 2B, 2C, 4
Meme kanseri	Hormona duyarlı hücre çizgileri (MCF7 ve T47D), Üçlü negatif meme kanseri hücre çizgileri (MDA-MB-231, HCC-1395 ve Hs578T) ve insan meme kanseri dokuları.	1B, 2A, 2B, 3A, 4, 7
Kolon kanseri	Fare kolon kanseri hücre dizileri (CT26 ve MC38), insan kolon kanseri hücre dizisi (HT29) ve insan kolon kanseri dokusu.	1A, 1B, 3, 4
Pankreas kanseri	İnsan pankreas kanseri hücre çizgileri (AsPC-1, BxPC-3, Capan-2, CFPAC-1, HPAC, PANC-1 ve SW1990PANC-1 ve MIAPaCa-2) ve insan pankreas kanseri dokusu mikrodizileri.	1B, 1D, 2B
Yumurtalık kanseri	İnsan yumurtalık kanseri hücre dizileri (SKOV3, HEY8, 2774, ES2, TOV112D, OV90, SW626, UWB1.298 ve CaOV3) ve insan yumurtalık kanseri dokuları	1A, 1B, 2A, 2B, 4
Melanom	Uveal melanom hücre dizisi, insan derisi melanom hücre dizisi (IPC-298)	2A, 2B, 2C
Glioblastoma	Glioblastoma hücre çizgileri ((U-373 MG, U-138MG, U-87 MG, DBTRG-05MG, T98G, H4, CCF-STTG1 ve Hs 683) ve İnsan glioblastoma dokuları.	5A, 7
Akciğer kanseri	<i>Lewis akciğer kanserinin in vivo fare modeli ve depresyonlu hasta akciğer adenokarsinomu örnekleri</i>	1B
Safra kanalı kanseri (Kolanjiokarsinom)	Kolanjiyokarsinom hücre çizgileri (Mz-Cha-1, Huh-28, Hucc-T1, CCLP-1, SG231, TFK1)	1A, 2A, 2B, 4, 6
İdrar kesesi kanseri	İnsan mesane kanseri hücre dizisi (HT1376)	1A, 1B, 1D, 2A, 2B, 2C
Plasenta kanseri (Koriokarsinom)	İnsan trofoblast hücre çizgileri (JEG3 ve BeWo)	2A

1.8 SERT ve Kanser

Çalışmalar, serotoninin çeşitli kanser türlerinde tümör oluşumunda, büyümesinde ve metastazında önemli bir sinyal molekülü olduğunu bildirmiştir. Serotonin geri alım taşıyıcıları (SERT) ve membran serotonin reseptörleri (HTR), tümör gelişiminin düzenlenmesinde rol oynar. Serotoninin SERT tarafından alınması, serotonin geri

dönüşümü ve yıkımında vazgeçilmez bir süreçtir. Çalışmalar ayrıca, hücre içi serotoninin çeşitli proteinlerle kovalent bağlar oluşturan önemli bir sinyal düzenleyicisi olduğunu bildirmiştir. Transglutaminaz 2 (TG2) tarafından transamidasyon yoluyla katalize edilen bu süreç, çeşitli protein özelliklerini ve gen transkripsiyonunu düzenler. Çalışmalar, sertralin gibi seçici serotonin geri alım inhibitörlerinin (SSRI'lar), SERT aktivitesini inhibe ederek antineoplastik etkiler gösterdiğini bildirmiştir.

SERT aracılı ekzojen alım ve endojen sentezi tümör hücreleri için hücre içi serotonin bulunabilirliğini düzenler. Serotonin biyosentezi, Triptofan hidroksilaz (TPH) katalizli Triptofan (Trp) katabolizmasıyla ilerler. Trp, hücrelere dışarıdan alınan esansiyel amino asittir (EAA). Protein sentezinde yer almasının yanı sıra, Trp ayrıca TPH veya indolamin 2,3-dioksijenaz (IDO) katalizli katabolizmaya uğrayabilir ve böylece tümör hücrelerinde serotonin ve onkojenik metabolit kinürenin (Kyn) üretebilir.

Sınırlı sayıda çalışma, özellikle kolon kanserinde, hücrelerin serotonin metabolizmasının homeostazını ve SERT yokluğunda buna karşılık gelen değişiklikleri düzenlediği mekanizmaları değerlendirmiştir. Bir başka çalışmada, SERT'i hedeflemenin kolon kanserinde Trp geri alımını ve katabolizmasını teşvik ederek telafi edici bir etki oluşturduğu bulunmuştur (Ye, 2021).

1.9 Potansiyel Bir Terapötik Hedef Olarak Serotonin Sinyal Yolu

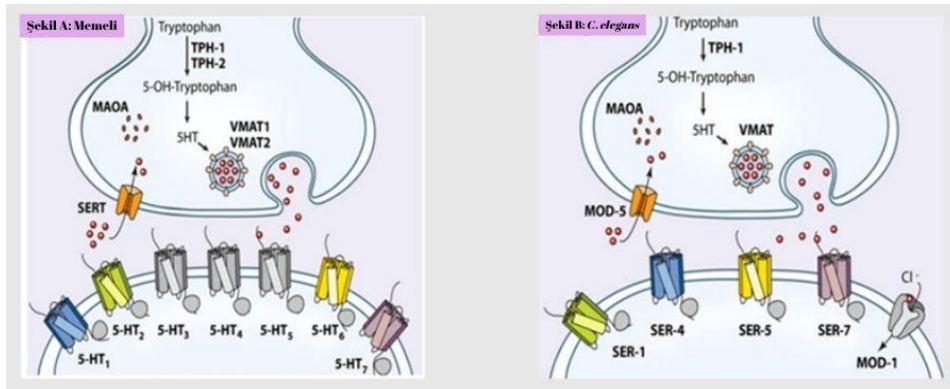
Halihazırda iyi bilinen serotoninin bir nörotransmitter olarak işlev görmesi ve çeşitli psikiyatrik ve nörolojik bozukluklardaki rolünün yanı sıra, serotonerjik yolağın tümör oluşumunda da rol oynadığı gösterilmiştir. Çeşitli in vitro ve in vivo çalışmalar, serotonin ve 5-HT reseptör alt tiplerinin hücre çoğalması, anjiyogenez, istila, göç ve metastazdaki rolünü göstermiştir. Akciğer kanseri hücreleri, melanom hücreleri ve CRC de dahil olmak üzere çoklu kanser hücrelerinin genetik modelleri, tümörlerdeki serotonin seviyelerinin tümör büyümesinde çok önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Serotonin bir onkogen görevi görse de tümör büyümesi üzerindeki etkisi belirsiz ve karmaşıktır. Bu, etkilerinin, ekspresyonu dokuya özgü olabilen 5-HT reseptörleri aracılığıyla aracılık ettiği gerçeğiyle açıklanabilir. Başka bir hipotez, serotoninin mitojenik etkisinin doza bağlı olduğu, yüksek dozların hücre proliferasyonunu teşvik ettiği ve düşük dozların tümör damarlarında vazokonstriksiyona neden olarak tümör büyümesinin inhibisyonuna yol açtığıdır. Buna karşılık, çeşitli genetik çalışmalar akciğerde, böbrekte, osteosarkomda ve Hodgkin

olmayan lenfomada 5-hidroksitriptamin reseptör 1B geninde (HTR1B) azalma olduğunu göstermiştir; bu da serotoninin 5-HTB reseptörü ile etkileşime girdiğinde bir tümör baskılayıcı olarak davranabileceğini düşündürmektedir. Bazı veriler, 5-HT reseptör ifadesinin yalnızca dokuya özgü olmadığını, aynı zamanda insan kanserlerinde de düzensiz hale geldiğini öne sürüyor. Örneğin insan kolanjiyokarsinomunda 5-HT 1B, 1F, 2B, 3C ve 7 hücre çizgileri aşağı doğru düzenlenirken diğer tüm alt tipler yukarı doğru düzenlenir. 5-HT1B ve 5-HT2B reseptör alt tipleri, normal karaciğer hücrelerine kıyasla karaciğer tümör hücrelerinde önemli ölçüde aşırı eksprese edilir. Bu nedenle, çeşitli kanserlerdeki 5-HT reseptör alt tiplerinin kapsamlı analizi ve daha iyi anlaşılması, etkili hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesine yardımcı olabilir.

5-HT reseptörleri, SERT ve serotonin sentez yolları potansiyel farmakoterapi hedefleri olarak incelenmiştir. MSS bozukluklarının tedavisi için SSRI'lar gibi çok sayıda serotonin hedef alan ilaç mevcuttur ve bunların antikanser ajanları olarak faydaları değerlendirilmektedir. SSRI'lar sinaptik yarık ve plazmadaki serotonin düzeylerini artırmalarına rağmen şaşırtıcı bir şekilde tümör oluşumuna katkıda bulunmazlar. Bunun yerine, bazı SSRI'ların in vitro sitotoksik etkiler gösterdiği ancak daha yüksek konsantrasyonlarda olduğu görülmüştür. Bu nedenle, SSRI'ların antidepresan dozlarıyla tedavi edilen hastalarda elde edilen konsantrasyonlar çok daha düşük olduğundan, bunların antikanser ajanları olarak kullanımları sınırlı olabilir. Serotonin yolunu hedef alan diğer ajanlar arasında SSA'lar bulunur. Octreotid ve lanreotid şu anda NET ile ilişkili karsinoid sendromun tedavisi için onaylanmıştır ve bunların metastatik NET'teki antiproliferatif etkileri de iyi bilinmektedir. Daha yakın zamanlarda, bir TPH inhibitörü olan TE, metastatik NET ve kolanjiyokarsinom gibi diğer kanserlerde değerlendirilmektedir. Serotoninin yukarıdaki fonksiyonlarının dışında, son zamanlarda serotoninin periferik bağışıklık sistemiyle, özellikle de T hücreleriyle etkileşime girdiğine dair artan kanıtlar vardır. Bağışıklık sistemindeki serotonin sinyalleme sisteminin kesin mekanizması belirsiz olmasına rağmen, çalışmalar 5-HT'nin bağışıklık uyarıcı bir etkiye sahip olduğunu ve 5-HT1A reseptör antagonistlerinin in vitro T hücresi proliferasyonunu ve sitokin üretimini azalttığını göstermektedir. Ayrıca SSRI fluoksetinin T hücrelerinde immünoşüpresif bir rol sergileyebileceği de gözlenmiştir. Bildiğimiz kadarıyla serotoninin insan kanserleri üzerindeki immünomodülatör etkisi çoğunlukla bilinmemektedir. İmmünoterapi (IO) çağında, bir 5-HT hedefleme ajanının IO'nun çeşitli kanserlerdeki etkisini güçlendirip güçlendiremeyeceğini görmek ilginç olacaktır (Balakrishna, 2021).

1.10 Serotoninin Memelilerde ve *Caenorhabditis elegans*'da Sentezlenmesi

Model organizma olarak yaygın kullanılan nematod *Caenorhabditis elegans*, serotonin sentezi ve fonksiyonunun anlaşılması açısından benzersiz avantajlar sunar. *C. elegans*'ta serotonin biyosentezi, memelilerdekiyle homolog enzimler olan TPH-1 ve AADC homologları tarafından yürütülür (Şekil 1.24). Ancak bu süreç, basit ve iyi haritalanmış bir sinir sistemi içinde yalnızca belirli nöron tipleri tarafından gerçekleştirilir; örneğin NSM ve ADF nöronları beslenme ve çevresel algı ile ilişkili serotonerjik merkezler olarak görev yapar. Genetik manipülasyon kolaylığı ve davranışların nöron-nöron seviyesinde izlenebilir olması, *C. elegans*'ı serotoninin davranışsal plastisite, duyuşal işleme ve homeostatik karar verme mekanizmalarındaki rolünü incelemek için güçlü bir model haline getirir. Memeliler ile *C. elegans* arasında serotonin sentezi mekanizmalarının hem korunmuş hem de türlere özgü yönleri, nörotransmitter biyolojisinin evrimsel temelini anlamada önemli bir çerçeve sunar. Ayrıca bu iki sistemin karşılaştırmalı analizi, karmaşık sinir sistemlerine sahip organizmalardaki serotonerjik işlevlerin daha basit model sistemlerden elde edilen bulgularla nasıl ilişkilendirilebileceğini göstermesi bakımından büyük bilimsel değere sahiptir. Bu tez çalışması, serotonin sentezinin moleküler temellerini, ilgili genetik düzenleyicileri ve her iki organizmadaki fizyolojik sonuçları inceleyerek, serotonerjik sistemin evrimsel sürekliliği ve fonksiyonel çeşitliliği hakkında bütüncül bir bakış sağlamayı amaçlamaktadır (Balakrishna, 2021).



Şekil 1.24: Serotoninin memelilerdeki (Şekil A) ve *Caenorhabditis elegans*'daki (Şekil B) sentezi (Curran, 2012)

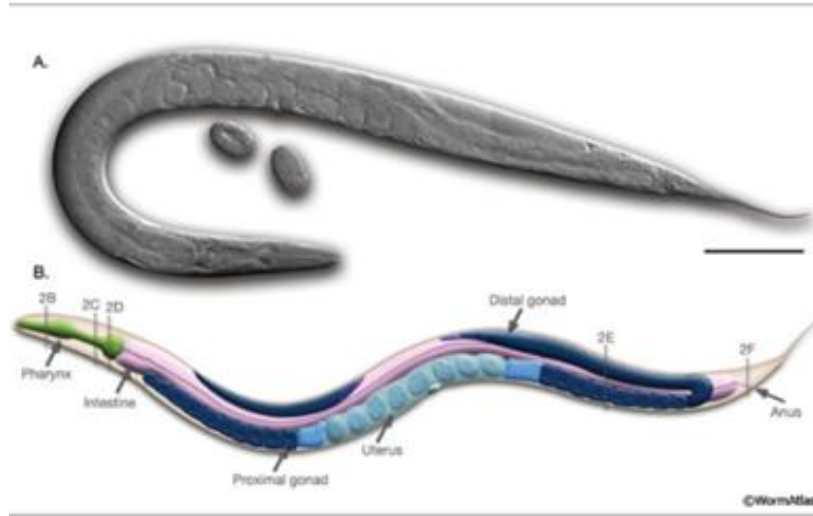
1.11 Model Organizmamız; *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*)

Caenorhabditis elegans, kısa yaşam döngüsü ve iyi tanımlanmış gelişimsel evreleri sayesinde moleküler biyoloji ve nörobilim çalışmalarında yaygın olarak kullanılan bir

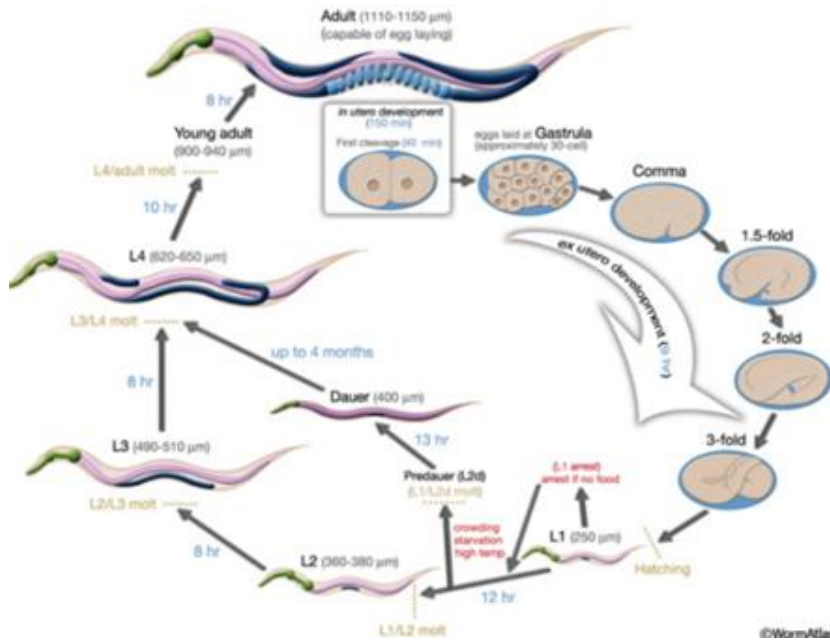
model organizmadır. Uygun laboratuvar koşullarında (20–22 °C), yaşam döngüsü yaklaşık 3–4 gün içinde tamamlanmaktadır (Bozkurt, 2023).

Yaşam döngüsü, embriyonik dönem, dört larval evre (L1–L4), çevresel koşullara bağlı olarak ortaya çıkabilen dauer evresi ve erişkin dönem olmak üzere sınıflandırılmaktadır. Embriyonik gelişim yaklaşık 14 saat sürmekte ve bu süreç sonunda larva yumurtadan çıkmaktadır. Ardışık larval evreler sırasında organizma büyür ve her evre, kutikula değişimi (molting) ile sonlanır. Sinir sistemi büyük ölçüde larval evreler boyunca organize olmakta ve erişkin dönemde fonksiyonel olgunluğa ulaşmaktadır (Bozkurt, 2023).

Olumsuz çevresel koşullar altında *C. elegans*, metabolik olarak baskılanmış ve uzun süre hayatta kalabilen dauer larvası evresine girebilmektedir. Dauer evresi, nöroendokrin sinyallerle sıkı biçimde düzenlenmekte olup serotonin başta olmak üzere birçok nörotransmitter sisteminin bu süreçte rol oynadığı gösterilmiştir (Bozkurt, 2023).



Şekil 1.25: *Caenorhabditis elegans* (Sternberg, 2025.)



Şekil 1.26: *C. elegans* 'ın yaşam döngüsü (Sternberg, 2025.)

1.11.1 *Caenorhabditis elegans*'ı Model Organizma Olarak Tercih Etmemizdeki Nedenler

Caenorhabditis elegans, moleküler biyoloji, genetik ve nörobilim alanlarında yaygın olarak kullanılan, basit yapılı ancak yüksek derecede bilgi sağlayan bir model organizmadır. Bu organizmanın model sistem olarak tercih edilmesinin başlıca nedenleri arasında kısa yaşam döngüsüne sahip olması, laboratuvar koşullarında kolay ve düşük maliyetle kültüre edilebilmesi ve genetik manipülasyona son derece elverişli bir yapıya sahip olması yer almaktadır (Brenner, 1974)

C. elegans'ın sinir sistemi yalnızca 302 nörondan oluşmakta olup bu nöronların tamamı arasındaki kimyasal ve elektriksel sinaptik bağlantılar ayrıntılı biçimde haritalandırılmıştır. Bu özellik, belirli genetik değişikliklerin nöronal devreler ve davranış üzerindeki etkilerinin hücresel düzeyde analiz edilmesine olanak tanımaktadır (Bargmann, 1998). Özellikle serotonerjik sistem gibi evrimsel olarak korunmuş nörotransmitter yollarının incelenmesinde *C. elegans*, basitliği ve yüksek fonksiyonel korunum düzeyi sayesinde önemli avantajlar sunmaktadır.

Ayrıca *C. elegans* genomunun büyük bir kısmı insan genomu ile fonksiyonel benzerlik göstermektedir. İnsan hastalıklarıyla ilişkili genlerin önemli bir bölümünün *C. elegans*'ta ortologlarının bulunması, bu organizmayı nöropsikiyatrik ve nörogelişimsel

bozuklukların moleküler mekanizmalarının araştırılmasında değerli bir model haline getirmektedir (Kaletta, 2006).

Şeffaf vücut yapısı sayesinde canlı organizma üzerinde floresan raporlayıcılar kullanılarak gen ekspresyonu ve hücresel süreçler gerçek zamanlı olarak izlenebilmektedir. Buna ek olarak RNA girişimi (RNAi), mutasyon analizi ve transgenik yaklaşımların kolaylıkla uygulanabilmesi, *C. elegans*'ın deneysel esnekliğini artırmaktadır (Fire, 1998).

Bu özellikler göz önünde bulundurulduğunda, *C. elegans*; serotonerjik sinyalizasyon, serotonin taşıyıcıları ve bunların davranışsal çıktılar üzerindeki etkilerinin araştırılmasında güçlü, güvenilir ve translasyonel değeri yüksek bir model organizma olarak öne çıkmaktadır.

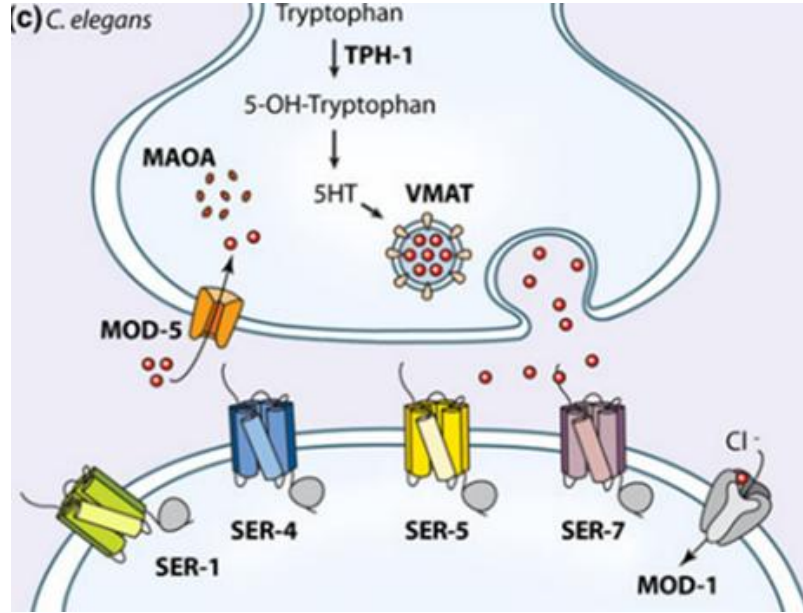
1.11.2 *C. elegans*'ta Serotonin Sentezi

Tanımlanmış kimyasal ve elektriksel sinapslarla birbirine bağlanan ve yalnızca 302 nörondan oluşan sinir sistemine sahip olan nematod *Caenorhabditis elegans*, tüm hayvan davranışlarını yönlendiren evrimsel olarak korunmuş serotonerjik sinyalizasyon yollarının çözülmesi için ideal bir model organizma olarak kabul edilmektedir (Bargmann, 1998; Chase, 2007)

C. elegans'ta serotonin, memelilerdeki triptofan hidroksilaz enzimiyle yüksek derecede homoloji gösteren TPH-1 enzimi tarafından sentezlenmektedir. Serotonin üretimi, başlıca altı farklı nöron grubunda gerçekleşmektedir. Bunlar; HSN, NSM, ADF, VC4, VC5 ve CP1–CP6 nöronlarıdır (Sze, 2000; Bargmann, 1998). ADF nöronları, çevresel bakteriyel sinyallerin algılanmasında görev almakta olup faydalı ve patojenik bakterilerin ayırt edilmesini sağlar. Bu duyuşsal bilgi, beslenme davranışının düzenlenmesi ve patojenlerden kaçınma yanıtlarının oluşturulmasında serotonin aracılığıyla merkezi sinir sistemine iletilmektedir (Sze, 2000). HSN nöronları ise, organizmanın besin durumuna bağlı olarak yumurtlama (egg-laying) davranışının düzenlenmesinde kritik rol oynamaktadır. Yiyeceğe erişimin artmasıyla birlikte HSN kaynaklı serotonin salınımı artmakta ve yumurtlama oranı yükselmektedir (Chase, 2007).

Buna ek olarak, NSM ve ADF nöronlarından salınan serotonin, yalnızca davranışsal çıktıları değil, aynı zamanda çevresel stres sinyallerinin germ hattına iletilmesini de

sağlamaktadır. Özellikle ısı stresi, AFD termal duyuşal nöronları tarafından algılanmakta ve serotonerjik sinyalizasyon aracılığıyla germ hattına aktarılmaktadır. Bu mekanizmanın, çevresel koşullara uyum ve nesiller arası fizyolojik düzenleme açısından önemli olduğu gösterilmiştir (Curran, 2012).



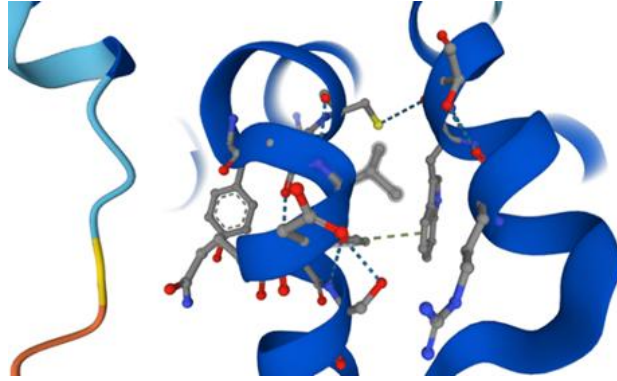
Şekil 1.27: *C. elegans*'taki serotonin sentezine yakından bir bakış (Curran, 2012)

1.11.3 *C. elegans*'ta SLC6A4 Benzeri Gen; MOD-5

Serotonin sinyalizasyonunun süresi ve şiddeti, sinaptik aralıktaki serotonin düzeylerinin düzenlenmesiyle kontrol edilmektedir (Bargmann, 1998; Chase, 2007). *C. elegans*'ta bu düzenlemede görev alan temel gen MOD-5'tir. MOD-5, memelilerdeki serotonin taşıyıcısı olan SLC6A4 (SERT) geninin fonksiyonel homologudur ve serotonin'in presinaptik nöronlara geri alımından sorumludur (Ranganathan, 2001).

MOD-5 proteininin işlevsel kaybı veya aktivitesinin azalması, sinaptik aralıkta serotonin birikimine yol açmakta ve buna bağılı olarak serotonerjik sinyalizasyonun süresi uzamaktadır (Chase, 2007). Bu durum, *C. elegans*'ta çeşitli davranışsal fenotiplerle ilişkilendirilmiştir. Yapılan çalışmalar, MOD-5 mutantlarında artmış serotonin düzeylerine bağılı olarak lokomotor aktivitede azalma, beslenme davranışında değişiklikler ve özellikle yumurta bırakma (egg-laying) davranışında artış meydana geldiğini göstermektedir (Jafari, 2011; Sze, 2000). MOD-5 aracılı serotonin geri alım mekanizması, serotonerjik nöronların fonksiyonel bütünlüğünün korunmasında ve

nörotransmitter dengesinin sağlanmasında kritik bir rol oynamaktadır. Bu nedenle mod-5, *C. elegans*'ta serotonin temelli davranışsal ve moleküler çalışmalar için önemli bir hedef gen olarak kabul edilmektedir (Bargmann, 1998; Chase, 2007)



Şekil 1.28: MOD-5'in 3D yapısı (Curran, 2012)

1.12 Amaç

Bu çalışmanın amacı, SLC6A4 ve MOD-5 genleri arasındaki yapısal ve fonksiyonel benzerlikleri çok yönlü moleküler ve biyoinformatik yaklaşımlar kullanarak ortaya koymaktır. Bu doğrultuda, öncelikle iki genin dizisel benzerlikleri biyoinformatik analizlerle incelenmiş; ardından promotor bölgeleri belirlenerek ortak transkripsiyon faktörlerinin bağlanma potansiyeli değerlendirilmiştir. Genlerin biyolojik işlevlerine ilişkin süreçleri anlamak amacıyla KEGG Pathway analizleri gerçekleştirilmiş; son olarak farklı hücre hatlarında ve *C. elegans* örneklerinde SLC6A4 ve MOD-5 genlerinin PZR amplifikasyonları yapılarak jel elektroforezi ile var-yok analizi gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamlı yaklaşım, genlerin evrimsel ilişkilerini, düzenleyici mekanizmalarını ve biyolojik rollerini daha iyi anlamayı hedeflemektedir.

I.Çalışmamızda ilk olarak SLC6A4 ve Mod-5 Genlerinin benzerliklerini biyoinformatik analizlerle belirledik.

II.Promotor bölgelerini tespit edip benzer Transkripsiyon faktörlerinin bağlandığı bölgeleri belirledik.

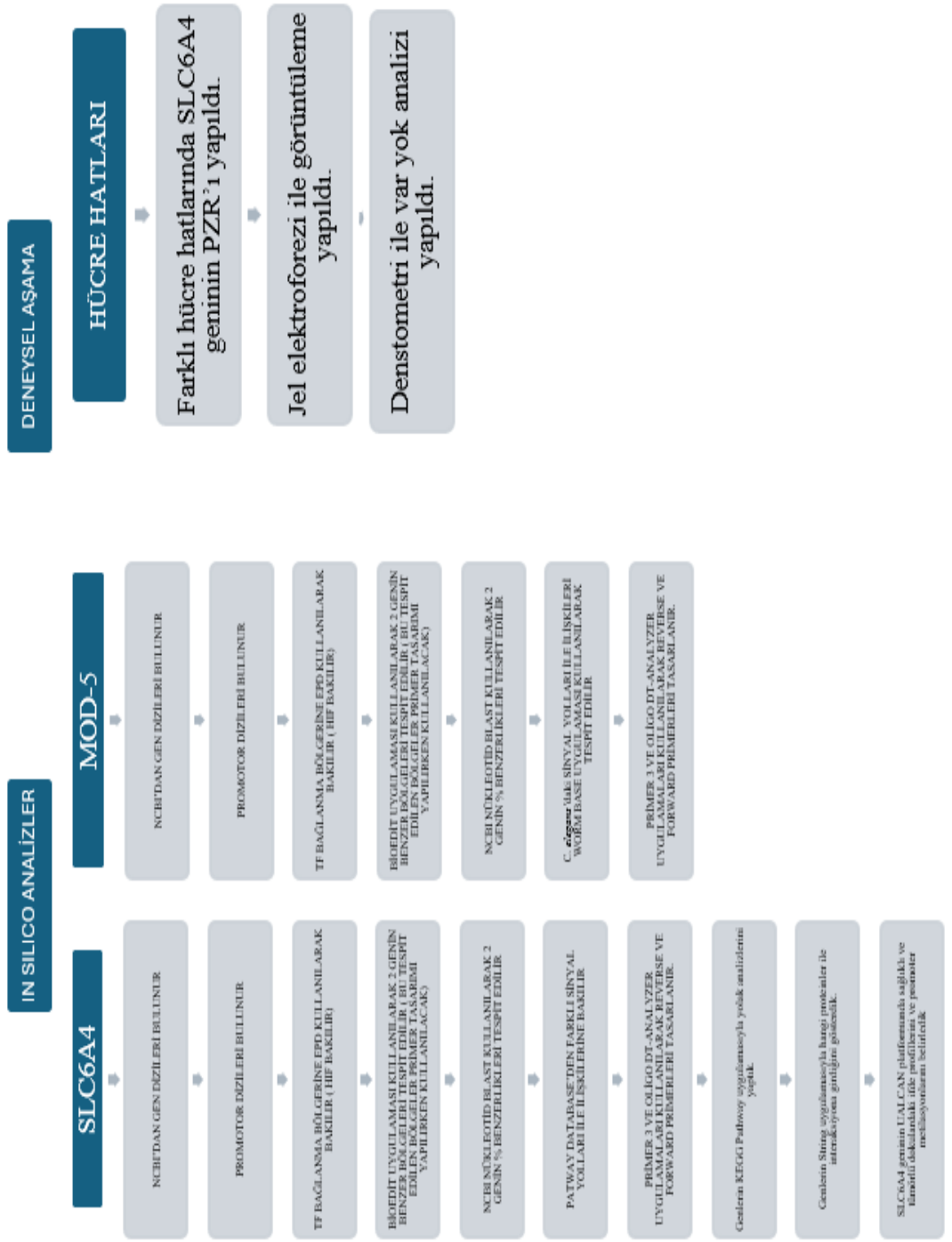
III.Genlerin KEGG Pathway uygulamasıyla yolak analizlerini yaptık.

IV.Genlerin String uygulamasıyla hangi proteinler ile interaksiyona girdiğini gösterdik.

V.SLC6A4 geninin UALCAN platformunda sağlıklı ve tümörlü dokulardaki ifde profillerini ve promoter metilasyonlarını belirledik.

VI.Farklı hücre hatlarında SLC6A4 geninin PZR'ını yaptık. Daha sonrasında Jel elektroforezi ile görüntüleme yapıp var-yok analizi yaptık.

İNSAN SLC6A4 VE *Caenorhabditis elegans* ORTOLOG GENİ Mod-5'in KARŞILAŞTIRILMASI



Tablo 1.3: Akış şeması

2. MATERYAL-METOD

2.1 Materyaller

2.1.1 Çalışmada Kullanılan Kimyasallar

Bu araştırma sırasında kullanılan tüm malzemeler moleküler biyoloji deneylerinde kullanılabilecek saflıkta ve sterilliktedir. PZR deneyleri sırasında kullanılan enzimler ve kimyasallar Fermentas, LightCycler ve Thermo scientific firmaları tarafından temin edilmiştir.

2.1.2 Çalışmada Kullanılan Canlılar

Bu çalışmada kullanılan AB1 *C. elegans* suşu Minnesota Üniversitesi, Farklı hücre hatları kullanılmıştır.

2.2 Metot

2.2.1 Sterilizasyon İşlemleri

Çalışma süresince kullanılan cam malzemeler, solüsyonlar, deney tüpleri, mikropipet uçları ve biyolojik örneklerle temas eden tüm sarf malzemeleri 121 °C’de 15–30 dakika otoklavda sterilize edilmiştir. Sterilizasyon sonrası cam malzemeler pastör fırınında kurutularak kullanıma hazır hale getirilmiştir.

C. elegans çalışmalarında kullanılan NGM (Nematode Growth Medium) plakları da aynı şekilde otoklavlanarak laminar akım kabini içerisinde dökülmüştür.

2.2.2 İn-siliko Analizler

Bu çalışmada, SLC6A4 ve MOD-5 genlerinin yapısal özelliklerinin, düzenleyici bölgelerinin ve fonksiyonel ilişkilerinin in siliko yöntemlerle kapsamlı bir şekilde analiz edilmesi amaçlanmıştır.

2.2.2.1 Gen Dizilerinin Elde Edilmesi

İnsan SLC6A4 genine ait mRNA dizisi, NCBI veri tabanından FASTA formatında indirilmiştir. *C. elegans*’a ait MOD-5 gen dizisi ise yine NCBI veri tabanından FASTA formatında elde edilmiştir.

2.2.2.2 Promotor Bölgesi Analizi

SLC6A4 geninin promotor bölgesi, NCBI ve ilgili genom anotasyon kaynakları kullanılarak belirlenmiştir. Tanımlanan promotor dizileri, transkripsiyon faktörü bağlanma bölgelerinin tespiti için analiz edilmiştir.

2.2.2.3 Transkripsiyon Faktörü Bağlanma Bölgelerinin Belirlenmesi

Genlerin potansiyel transkripsiyon faktörü (TF) bağlanma bölgelerini saptamak amacıyla EPD (Eukaryotic Promoter Database) kullanılmıştır. Özellikle HIF (Hypoxia-Inducible Factor) bağlanma motiflerinin varlığı değerlendirilmiştir.

2.2.2.4 Dizi Benzerliği Analizi

Her iki gen dizisinin ortak bölgelerini belirlemek için BioEdit yazılımı kullanılarak çoklu hizalama (multiple alignment) yapılmıştır. Elde edilen benzer diziler, daha sonra primer tasarımı için kullanılmak üzere kaydedilmiştir. Genler arasındaki yüzdelik dizi benzerlikleri ise NCBI Nucleotide BLAST aracı kullanılarak belirlenmiştir.

2.2.2.5 Yolak Analizleri

SLC6A4 geninin çeşitli hücresel yollarla ilişkisi Pathway Database kullanılarak değerlendirilmiştir. MOD-5 geninin *C. elegans* organizmasındaki sinyal yolları ile ilişkisi ise WormBase veri tabanı üzerinden analiz edilmiştir.

2.2.2.6 Primer Tasarımları

SLC6A4 ve MOD-5 genleri için özgül ileri (forward) ve geri (reverse) primerler, Primer3 ve OligoAnalyzer (Oligo DT-Analyzer) yazılımları kullanılarak tasarlanmıştır. Tasarımda aşağıdaki kriterler dikkate alınmıştır:

- I. GC içeriği
- II. Erime sıcaklığı (T_m) uyumu
- III. Dimer ve saç tokası (hairpin) yapısı oluşturmama
- IV. BioEdit analizlerinde belirlenen ortak bölgelerin hedeflenmesi

2.2.3 In-vivo Analizler

2.2.3.1 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile cDNA Kontrolü

SLC6A4 gen ekspresyon çalışmalarında kullanılan cDNA'ların bütünlüğü SLC6A4(insan) kontrol primerleri ile doğrulanmıştır. Reaksiyonlar 50 µL hacimde hazırlanmış ve standart Taq polimeraz koşulları kullanılmıştır. PZR ürünleri %1 agaroz jelde yürütülerek UV altında görüntülenmiştir.

2.2.3.2 Agaroz Jel Elektroforezi

%1 agaroz jel hazırlanarak örnekler 90 V'de 40 dakika yürütülmüştür. Jel elektroforezi sonrası bantlar UV transillüminatörde görüntülenmiştir.

3. BULGULAR

3.1 Çalışılan genlere ait dizilerin elde edilmesi

Bu çalışmada, serotonin geri alımından sorumlu olan ve literatürde sıklıkla 5-HTT veya SERT olarak da adlandırılan SLC6A4 (Solute Carrier Family 6 Member 4) geni incelenmiştir. Geleneksel olarak merkezi sinir sistemi üzerindeki etkileriyle bilinen SLC6A4, son yıllarda onkoloji literatüründe de dikkat çeken bir biyobelirteç haline gelmiştir. Kanser hücrelerinde serotonerjik sinyal yollarının bozulması; hücre proliferasyonu, apoptoz direnci ve metastatik potansiyel ile ilişkilendirilmektedir. Özellikle tümör dokusundaki SLC6A4 ekspresyon seviyelerinin, tümörün evresi ve prognozu ile korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Bu durum, serotonin taşıyıcılarının kanser tedavisinde potansiyel birer terapötik hedef olabileceğini ve mevcut SSRI grubu ilaçların onkolojik tedavilerde destekleyici olarak kullanım imkanlarını gündeme getirmektedir.

Çalışmada kullanılan SLC6A4 (Solute Carrier Family 6 Member 4) genine ait referans nukleotid dizisi, NCBI (National Center for Biotechnology Information) veri tabanından [NM_000871.3] erişim numarası ile temin edilmiştir. SLC6A4 geni, insan genomunda 17q11.2 lokasyonunda yer almaktadır. Bu bölge, nörolojik ve psikiyatrik bozukluklarla ilişkilendirilen kritik gen gruplarını barındırması bakımından önem taşımaktadır. Kodlanan SERT proteini, sinaptik boşluktaki serotonin (5-HT) moleküllerini sodyum ve klor bağımlı bir mekanizmayla presinaptik nörona geri taşıyarak, serotonerjik sinyalleşmenin sonlandırılmasında ve nörotransmitter homeostazının korunmasında anahtar rol oynamaktadır. SLC6A4, günümüzde depresyon ve anksiyete bozukluklarının tedavisinde yaygın olarak kullanılan Selektif Serotonin Geri Alım İnhibitörleri (SSRI) sınıfı ilaçların temel moleküler hedefidir.

3800bp'lık bir diziden oluşan SLC6A4 3 exon içermektedir. İlk exon 1-1593 bp, ikinci exon 1594-1752 ve 3. Exon ise 1753-3800 bp'lık bölgeleri içermektedir. Genin kodlama yapan bölgesi (CDS) 880-2202 nükleotidleri kapsamaktadır bu bölge 440 amino asite karşılık gelmektedir.

Homo sapiens 5-hydroxytryptamine receptor 6 (HTR6), mRNA

NCBI Reference Sequence: NM_000871.3

[GenBank](#) [Graphics](#)

```
>NM_000871.3 Homo sapiens 5-hydroxytryptamine receptor 6 (HTR6), mRNA
GCACCCGGCCTCTCTCCGCGCGTGCGGGCCCTCGCGCGCTCCCGGGCTCGGGAGACCCGGTCCCGC
CGCCCGCCGGCCGCGCGCGCTCTCTCTCTCGAGCCCCGCGCGCTTGCCGAGTCGACGGCGCGCG
AGCAGCCAGAGCGCCAGGTACAGTGCGGGCGGGAGACGGAGCGACCTGTGCGGGTGGGGAGGG
GGCGCCGCGCGCGCTGCGCTCTCTCTCCGCGGGCTTGCGGGCCCGGCGAACCCCGCGCGCACA
GGCCGTGTGCGCGGATCCCGGTGCTCCGCGCGAGTGAGACCTGCCTTTCCAGGGGCGGCTTGCTC
CGGCCCTAGGCCCCGCGCTGTACCCACACGCCACCGCGCGGGGAGCTGTCTCGGCCCGAGAG
CGCCCATTCACCCCCCTACCCACCTCCCGCGTTCCTCCACTTCCCGCACTCTGACCCGGCGGACGCC
CTCCCTATCTTGCCGCCCGCCCCCTCAGGGGGCTGTGCTCCACCCAGGGAGCCATCCGACCTGTG
CTTGACTTCCCGCGCTTCTTCAAGGGCTCGGCTCATCGGGTCCCCCTCCCAAACTTCCAACCGTT
TGCTCAGGAGTTCTGCGCCATCCCGAGGGCGCCAAATAGCCACACTGTGTCTCTGTAGTCGTG
CCCCGTGACCTAGCGCGACCCAGCGCCCCGCCATGTCCCCCACTACCTCCCCGGGGGGCGTGGTG
AGTCGCGGTCTGTCTACGGACGGTCCCGTCCAGCCTGCGCTTCGCGGGGGCTCATCTGCTTCCC
GCCACCTATCACTCCCTTGCGTCCACCTCGGTCTCATGGTCCAGAGCCGGGCCAACGCCAATA
GCACCCCGGCTGGGGGGCAGGGCGCGCTCGGCCCGGGGGGCAAGCGCTGGGTGGCGCCGCGCTGTG
```

Şekil 3.1: SLC6A4 mRNA nükleotid dizisi

Caenorhabditis elegans Taşıyıcı (mod-5), kısmi mRNA

NCBI Referans Dizisi: NM_058694.4

[GenBank](#) [Grafikleri](#)

```
>NM_058694.4 Caenorhabditis elegans Taşıyıcı (mod-5), kısmi mRNA
ATGTGCGTTGGCATTCCGTCCGGAGGAAACAGCACCAGCAGCTGCAAGCTGAACCTCTCCAGCGGTGCA
CTAGCATGTGTGCGCGCCAGAAATCTCGCGGTGTGAGCCGATCGATGAGTGTTAAAGCACCAGCAGCATC
AGAATACATGCCATTATCAGTTGCCGATAAGCCCCTAACACTAACCGTATCAACTTCACACAGTATTGAT
CCAAATGAGCAATCGCTGCTCTCGGTGGTCTCACACCGACAAAAGAGGCGGAGTTGCCGCACTGCGAA
GACGGAGTTCAATGGTTCGTGATAAATGGGCACTAAAATGGAATTCCTGTTGGCCGTCGTTGGATATGC
AGTTGATTGGGTAATATATGCGGATTCCCATCAGTATGCTACAAACACGGTGGCGGTGCTTTCTATT
CCATATTTCAATTATGTTAATGATCGGAGGACTTCCCATGTTCTATATGGAACCTTGACTCGGACAATTC
ATCGGTGAGGATGTGTTAGTATATGGAGAAAGGTGTGCCCGTTGTTTCGAGGAATCGGTTACGGTATCTG
CTGTATTTGCAGTTCATAGCCATTTTCTATAATGCGATCATGCTCAAGCCGTCTATTTTGTATTGTT
TCACTTTCAAAAATTTGGGATTCCGAAGTTCCGTGGGCGTCATGTGCAATCCGTGGAATACACCGAGAT
GCTCAGATGACCTCAACGTGACAATATCTAGAAATGGGACACCATGACCACTCCGTGAGGAATATTA
TTTATACAAAGTCCTTGAAGTTCAAAAATCAACAGGATTCGATGATCTTGGAGGTGAAAAAATTCATAT
GCAGTGTGCTACTCGCTGTATTATAATGGTTACTTTGCTCTTTGGAAGGGTCCACAGTCGTCTGGAA
AAATTGTTGGGTGACTGCAACAGCTCCATATATTATTCTAAGATTCTTCTTATACGTGGAGTCTTCT
TCCTGGAGCAAAAGATGGTCTCTATTATTATGTGACACCGGATTTCGAGAACTCAAGGATCCTGCAAT
TGGTGGCTGCTGTACACAGATTCTTCTCACTTGACCAAGGATTGGGGTGTGCTGCTCGCGCTGAGCA
```

Şekil 3.2: MOD-5 mRNA nükleotid dizisi

3.2 SLC6A4 ve MOD-5 Gen Dizilerinin Benzerlik Analizi

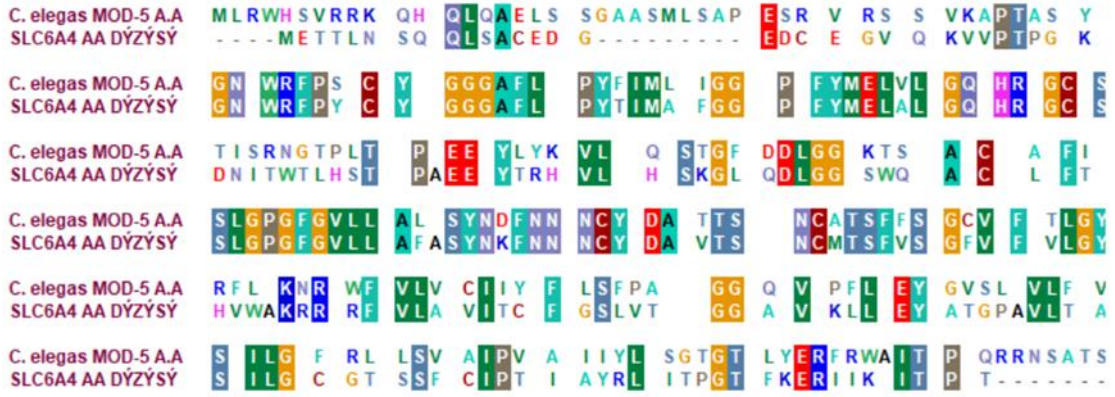
İnsan SLC6A4 geni ile *Caenorhabditis elegans* MOD-5 geni arasındaki dizi homolojisi, BioEdit yazılımı kullanılarak gerçekleştirilen lokal hizalama (alignment) analizleri ile değerlendirilmiştir. Yapılan in-silico analizler sonucunda, iki genin 250 bp ile 2840 bp aralığında değişen bölgelerinde yüksek düzeyde nükleotid benzerliği sergilediği tespit edilmiştir. Bu sekans benzerliği, serotonin taşıma mekanizmasının evrimsel süreçte yüksek oranda korunduğunu (highly conserved) ve *C. elegans* model organizmasının,

insan serotonerjik sistemindeki kanserle ilişkili yolların çalışılmasında güvenilir bir model olabileceğini desteklemektedir.

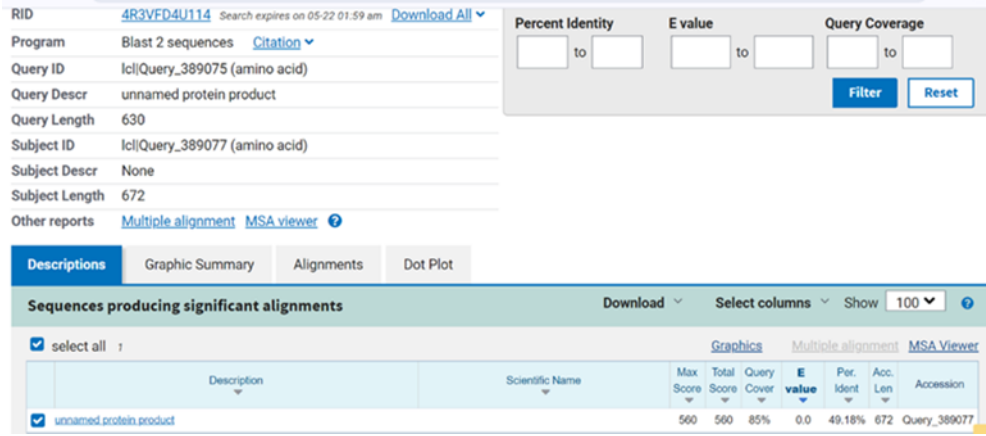
MOD-5 ve SLC6A4 arasındaki bu yapısal benzerlik, özellikle hücre proliferasyonu ve kemosensitivite (ilaç duyarlılığı) üzerinde rol oynayan serotonin taşıyıcı proteinlerin, model organizma üzerinde hedeflenerek kanser progresyon çalışmalarına dahil edilmesine olanak sağlamaktadır.

Homo sapiens SLC6A4 C. elegans MOD-5	GAGATCAAATT ATGCTGCGTT	GGGATCCTTG GGCATTCCGT	GCAGATGGAA- CCGGAGGGA	CATCAGTGTCT CAGCACCAAGC	ATTTACTTAA AGCTGCAAGC
Homo sapiens SLC6A4 C. elegans MOD-5	GTCAGGAAAA GTTAA-AGCA	CGGAGTTCTA CCGACAGCAT	CAGAAAGTTTG CAGAATAC-A	TTCCCACCCC TGCCATTATC	AGGGGACAA AGTTGCCGA
Homo sapiens SLC6A4 C. elegans MOD-5	ACTCTATCCCT GTGGTCTCAC	AGCGACCACC ACCGACAAAA	ACCACCTTAG GAAGGCCGAG	TGGCTGAGCT TTGCCGCACT	TCAATCAAGG GCGAAGACG
Homo sapiens SLC6A4 C. elegans MOD-5	ACCTGGGCAA ATTTGGGTAA	TGTCTGGCGC TATATATGGCGA	TTCCCCTACA TTCCCATCAG	TATGTTACCA TATGCTACAA	GAATGGAGG ACACGGGTGG
Homo sapiens SLC6A4 C. elegans MOD-5	G-ACCTGGGAC GTACTCTGGAC	AGTACCACCG AAATTTTCATCG	AAATGGATGTC GTCAAGGATGT	ATTTCAATAT GTTAGTATAT	GGAGGAAAA GGAG-AAA
Homo sapiens SLC6A4 C. elegans MOD-5	CACCATCATG TGGATCATC	GCCTGGGCGC GCTCAAGCCG	TATACCTACCT TCTATTTTTC	CATC-TCTCT TATTGTTTCA	CCTTCACGG CTTTCAAAA
Homo sapiens SLC6A4 C. elegans MOD-5	CTCCGAGGAC CAACGTTG-AC	AACATC--A AATATCTTAGA	CCTGACCCTC AATGGGACAC	CATTCCACGT CATTGACCAC	CCCCTGCTG TCCGT-CA
Homo sapiens SLC6A4 C. elegans MOD-5	TGGCA-GCTG AACTTCAATG	GCCCTCTGCA GCAGTGTGCC	TCAATGCTGAT TACTCGCTGT	CTTCACTGTT ATTTATAATG	ATCTACTTT GTTTACTTT
Homo sapiens SLC6A4 C. elegans MOD-5	TTCGTCTCTG AAGTATTCTT	CTGGTGAAGG CTTATACGTG	GTGCCACCCT GACTTCTTCT	CCCTGGAGCC TCTTGGAGCA	TGGAGGGGG AAGAATGGT
Homo sapiens SLC6A4 C. elegans MOD-5	ATCTTTCTTC AGAATTTCTTC	TCTCTTGGTC TCACTTGGAC	CGGGCTTTGG CAGGAATTCGG	GGTCTGCTG GGTCTGCTC	GCTTTTGTCT GCGCTGAGC
Homo sapiens SLC6A4 C. elegans MOD-5	CTTCGTTTCG ATTCTTTTC	GGATTTGTCA GGATGTGTTG	TCTTCACAGT TATTCTCTAC	GCTCGGTAC ACTTGGCTAT	ATGGCTGAG ATGTCTCTT
Homo sapiens SLC6A4 C. elegans MOD-5	AAGCGATAGC AAGCTCTCGC	CAACATGCCA AACAATGGAT	GCGTCCACCT TACAGTTGTT	TCTTTGCCAT TCTGGTCTTT	CATCTTCTT CATCTTTT
Homo sapiens SLC6A4 C. elegans MOD-5	ATGAGTTCC ATGAGT--C	ACACGTCTGG GAGGTTTITG	GCCAAGCGCC TCGAAAAATC	GGGAGCGGTT GAAAGATGGTT	CGTGCTCGC CGTGCTGGT
Homo sapiens SLC6A4 C. elegans MOD-5	TGGAGGAGTA TGGATGAATA	TGCCACGGGG TGAGATTTCT	CCCGCAGTGC CTATCAGTTC	TCACTGTGCG TGTTCAATTG	GCTGATCGA CACCTGCGA
Homo sapiens SLC6A4 C. elegans MOD-5	GCCCGGGGTG ATCCTGGGAA	GTTCTGGAGG TTATTTGGAGA	ATCTGCTGGG GTCTGCTGGA	TG-GCCAACA CGTGTTCTCC	GCCCTCTGT GGTTTTTAA
Homo sapiens SLC6A4 C. elegans MOD-5	CTTACTGGAG CCTGGTGGAG	TATCATCTTG TGTTATTTTG	GGTTACTGCA GGTTGGTTCC	TAGGAACCTC TGAGACTTCT	ATCTTTCA CTCAGTCC
Homo sapiens SLC6A4 C. elegans MOD-5	GTATTACCC GCAATAACTC	AGAAACACCA CTCAACAACG	ACAGAAATTC -CCGAAATTC	CTTGTTGGGA -GGCGA	CATCCGCT CTTCT--C
Homo sapiens SLC6A4 C. elegans MOD-5	GGCAGGCCTG GATAATTCTT	CTTCTCCTCC GGTGACTGT	TCCAAAGTGAA TGGAAGTCAA	TGAGTTTCCA CGA-TCGATA	GCTAAGGCC GCCGTGCA
Homo sapiens SLC6A4 C. elegans MOD-5	CCATGGATTCT TGACG--CC	CCCTGGACAT CGTTTTATTCT	ATTCCCATGG CTTTTTTTT	TAGACTGTGA TAAATAAAAA	CACAGCTGA CTAAATTGG
Homo sapiens SLC6A4 C. elegans MOD-5	TTAGGTTT- GCAGGATTG	AGAAATCAAGT AAAAATTACGC	CTGTGAAAGT TCTGCCCTCT	CTCCTGTATC TTCACGAATC	-ATTTCTTG GATCTTTTA
Homo sapiens SLC6A4 C. elegans MOD-5	GGAGAGAACAA TTCTCGAACT	GGGATGCTAT CGAATTATTT	CTCGC-TAGC CTGGAGTAGC	CATATATTTT GTTTTATTTT	-CTGAGTAG TCCCGATCT
Homo sapiens SLC6A4 C. elegans MOD-5	GAAAGATGTAA TTGTAAATAA	GAAAGCTAAAA TCAATTAAAA	TGAAAAAATA -AAAGAAAT-	GTTGTGTTCCAT -TTTATTT	GCAAGCTTC GCACGAT-A

Şekil 3.3: SLC6A4 ve MOD-5 'in nükleotid karşılaştırılması



Şekil 3.4: SLC6A4 ve MOD-5 ‘in amino asit dizisi karşılaştırılması



Şekil 3.5: İnsan SLC6A4 ve *C. elegans* MOD-5 amino asit dizilerinin Blast ikili hizalama kullanılarak elde edilen karşılaştırma sonucu

Protein düzeyinde gerçekleştirilen NCBI BLASTp (Protein-Protein BLAST) analizlerinde, insan SLC6A4 ve *C. elegans* MOD-5 genleri tarafından kodlanan amino asit dizileri karşılaştırılmış; bu iki protein dizisi arasında %85 oranında benzerlik (similarity) ve yüksek düzeyde korunmuş bölgeler tespit edilmiştir. Protein yapısındaki bu yüksek orandaki korunmuşluk, MOD-5'in insan SLC6A4 proteininin fonksiyonel bir homologu (ortologu) olduğunu biyoinformatik olarak doğrulamaktadır. Bu bulgular, kanser patogenezinde serotonin taşıma mekanizmalarının ve taşıyıcıyı hedef alan potansiyel inhibitörlerin etkilerinin *C. elegans* model sisteminde incelenmesi için sağlam bir moleküler temel oluşturmaktadır.

3.3 SLC6A4 Genine Ait Primer Tasarımı ve Doğrulama Sonuçları

SLC6A4 genine özgü primer tasarımı, Primer3 (v4.1.0) yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tasarım sürecinde; primerlerin hedef bölgeyi özgül (spesifik) olarak çoğaltabilmesi için ideal erime sıcaklığı (Tm), GC içeriği ve primer uzunluğu kriterleri optimize edilmiştir. Tasarlanan primerlerin dizileri: Forward primer 5'-CAATCCCGACGTGTCAATCC-3'; Reverse primer 5'-TATTTGCCCGGACTCCACTT-3' şeklindedir. Tasarlanan primer dizilerinin özgüllüğü, NCBI BLAST (Primer-BLAST) aracı kullanılarak insan genomu üzerinde doğrulanmıştır. Yapılan analizler sonucunda, her iki primerin de hedef SLC6A4 gen bölgesi ile %100 benzerlik gösterdiği ve genom üzerinde başka bir bölge ile anlamlı eşleşme sergilemediği saptanmıştır. Bu veriler, tasarlanan primer setinin yüksek spesifiteye sahip olduğunu ve hedef bölgeyi çapraz reaksiyon vermeden çoğaltabileceğini doğrulamaktadır.

```
AGTCCGGGCAAATATCCAATGGGTACTCAGCAGTTCCAAGTCCTGGTGCGGGAGATGACAC
ACGGC ACTCTATCCCAGCGACCACC ACCACCCTAGTGGCTGAGCTTCATCAAGGGGAACG

TATTTGCCCGGACTCCACTT Forward Primeri

GGAGACCTGGGGCAAGAAGGTGGATTTCCTCCTCAGTGATTGGCTATGCTATGCTGTGGAC
CTGGGCAATGTCTGGCGCTTCCCCTACATAT

GTTACCAGAATGGAGGGGGGGGCATTCTCCTCCCCTACACCATCATGGCCATTTTGGGG
GAATCCCGCT

CTTTTACATGGAGCTCGACTGGGACAGTACCACCGAAATGGATGCATTTCATAA

TGGAGGAAAAATCTGCCCCGATTTTCAAAGGGATTGGTTATGCCATCTGCATCATTGCCCTTTAC
ATGCTTCCTACTACAACACCA

TATTTGCCCGGACTCCACTT Reverse Primeri
```

Şekil 3.6: Primerlerin dizi üzerinde gösterimi

Açıklamalar

Grafik Özeti

Hizalamalar

Taksonomi

Önemli hizalamalar üreten diziler

İndirmek

Sütunları seçin

Göstermek

100

☒ tümünü seç

100 dizi seçildi

GenBank

Grafikler

Sonuçların mesafe ağacı

MSA Görüntüleyici

	Tanım	Bilimsel Adı	Maksimum Puan	Toplam Puan	Sorgu Kapağı	E değeri	Kişi Kimliği	Acc. Len	Katılım
☒	Homo sapiens 5-HT6 serotonin reseptörü mRNA'sı, komple cds	Homo sapiens	50.1	50.1	%100	5e-05	%100.00	1984	L41147.1
☒	Homo sapiens 5-hidroksitriptamin reseptörü 6 (HTR6), mRNA	Homo sapiens	50.1	50.1	%100	5e-05	%100.00	3800	NM_000871.3
☒	Kromozom 1p35.1-36.13'teki RP5-1056L3 klonundan elde edilen insan DNA dizisinin tamamı	Homo sapiens	50.1	50.1	%100	5e-05	%100.00	163848	AL031727.43
☒	Homo sapiens klon 23925 mRNA dizisi	Homo sapiens	50.1	50.1	%100	5e-05	%100.00	1636	AF007141.1
☒	Homo sapiens genomik DNA'sı, kromozom 1p36 klonu:956M3, tam sekans	Homo sapiens	50.1	50.1	%100	5e-05	%100.00	130080	AP003160.1
☒	Homo sapiens kromozom 8 klon RP11-108P12, tam sekans	Homo sapiens	36.2	36.2	%72	0.78	%100.00	123436	AC009872.8

Şekil 3.7: SLC6A4 forward primer blast sonucu

primerlerin *C. elegans* genomunda başka bir bölgeyle anlamlı eşleşme göstermediğini ve yalnızca hedef diziye spesifik olduğunu kanıtlamıştır. Bu sonuçlar, tasarlanan primer setinin çapraz reaksiyon riskini ortadan kaldırarak, deneysel süreçlerde MOD-5 gen ekspresyonunun veya amplifikasyonunun yüksek hassasiyetle takip edilmesine olanak tanıyacağını göstermektedir.

Açıklamalar

Grafik Özeti

Hizalamalar

Taksonomi

Önemli hizalamalar üreten diziler

İndirmek

Sütunları seçin

Göstermek

100

hepsini seç

100 dizi seçildi

Gen Bankası

Grafik

Sonuçların uzaklık ağacı

MSA Görüntüleyici

	Tanım	Bilimsel ad	Maksimum Puan	Toplam puan	Sorgu Kapağı	E değeri	Başına Kimlik	Acc. Len	Katılım
☒	Caenorhabditis elegans suşu CB4856 kromozom I	Caenorhabditis...	40.1	332	100%	0,002	%100,00	15528896	CP038187.1
☒	Caenorhabditis elegans Hawaii CB4856 kromozom I suşu	Caenorhabditis...	40.1	332	100%	0,002	%100,00	15045644	CP116372.1
☒	Caenorhabditis elegans suşu Bristol N2 kromozom I	Caenorhabditis...	40.1	307	100%	0,002	%100,00	15114068	CP116366.1
☒	Caenorhabditis elegans genom topluluğu C. elegans_Bristol_N2_v1_5_4_iskele CELN2_sc...	Caenorhabditis...	40.1	40.1	100%	0,002	%100,00	34717	LK928349.1
☒	Caenorhabditis elegans suşu CB4856 kromozom I	Caenorhabditis...	40.1	356	100%	0,002	%100,00	15528564	CP084669.1
☒	Caenorhabditis elegans YAC Y54F100R tam sekans	Caenorhabditis...	40.1	40.1	100%	0,002	%100,00	54475	EQ081838.1
☒	Caenorhabditis elegans Taşıyıcı (mod-5), kısmi mRNA	Caenorhabditis...	40.1	40.1	100%	0,002	%100,00	2538	NM_058694.4
☒	Caenorhabditis elegans serotonin geri alım taşıyıcısı (mod-5) mRNA tam CD'ler	Caenorhabditis...	40.1	40.1	100%	0,002	%100,00	2016	AF385631.1

Şekil 3.10: MOD-5 forward primer blast sonucu

Açıklamalar

Grafik Özeti

Hizalamalar

Taksonomi

Önemli hizalamalar üreten diziler

İndirmek

Sütunları seçin

Göstermek

100

?

hepsini seç

100 dizi seçildi

Gen Bankası

Grafik

Sonuçların uzaklık ağacı

MSA Görüntüleyici

	Tanım	Bilimsel ad	Maksimum Puan	Toplam puan	Sorgu Kapağı	E değeri	Başına Kimlik	Acc. Len	Katılım
☒	Caenorhabditis elegans Taşıyıcı (mod-5), kısmi mRNA	Caenorhabditis...	40.1	40.1	100%	0,002	%100,00	2538	NM_058694.4
☒	Caenorhabditis elegans serotonin geri alım taşıyıcısı (mod-5) mRNA tam CD'ler	Caenorhabditis...	40.1	40.1	100%	0,002	%100,00	2016	AF385631.1
☒	Caenorhabditis elegans suşu CB4856 kromozom I	Caenorhabditis...	40.1	1227	100%	0,002	%100,00	15528896	CP038187.1
☒	Caenorhabditis elegans Hawaii CB4856 kromozom I suşu	Caenorhabditis...	40.1	1225	100%	0,002	%100,00	15045644	CP116372.1
☒	Caenorhabditis elegans suşu Bristol N2 kromozom I	Caenorhabditis...	40.1	1270	100%	0,002	%100,00	15114068	CP116366.1
☒	Caenorhabditis elegans genom derlemesi C. elegans_Bristol_N2_v1_5_4_iskele CELN2_s...	Caenorhabditis...	40.1	40.1	100%	0,002	%100,00	92309	LK927848.1
☒	Caenorhabditis elegans suşu CB4856 kromozom I	Caenorhabditis...	40.1	1227	100%	0,002	%100,00	15528564	CP084669.1

Şekil 3.11: MOD-5 reverse primer blast sonucu

3.5 SLC6A4 Geninin Promotör Bölgesinin Belirlenmesi

SLC6A4 genine ait promotör dizisi, NCBI ve EPD (Eukaryotic Promoter Database) veri tabanları kullanılarak in siliko yöntemlerle belirlenmiştir. Analiz kapsamında, genin transkripsiyon başlangıç bölgesinin (TSS) yukarı akışında (upstream) yer alan düzenleyici bölgeler, başlangıç kodonunu (ATG) odak noktası olarak haritalandırılmıştır. EPD veri tabanından elde edilen yüksek doğruluklu promotör verileri ile NCBI genomik dizileri karşılaştırılmış ve her iki veri kaynağının birbiriyle tam uyumlu olduğu teyit edilmiştir.

Belirlenen bu bölgenin, SLC6A4 gen ekspresyonunun dokuya özgü ve kanserle ilişkili regülasyonunda kritik rol oynayan spesifik transkripsiyon faktörü bağlanma bölgelerini (TFBS) içerdiği gözlemlenmiştir. Analizler, başlangıç kodonunun yaklaşık -1000/+1000 bç yukarı akışındaki (upstream) bölgeyi kapsayacak şekilde daraltılmıştır. Promotör analizi sonucunda; hücrel stres ve proliferasyon süreçleriyle ilişkili olan SP1 ve CREB gibi transkripsiyon faktörleri için konsensus bağlanma motifleri saptanmıştır. Yapılan detaylı promotör analizi sonucunda, SLC6A4 geninin düzenleyici bölgesinde HIF (Hypoxia-Inducible Factor) bağlanma bölgeleri (HRE: Hypoxia Response Element) tespit edilmiştir. Tüm faktörlere ait bağlanma bölgeleri (Şekil 3.14- 3.18)' de gösterilmiştir. Tümör mikroçevresindeki düşük oksijen seviyelerine (hipoksi) yanıt olarak tetiklenen HIF sinyal yolunun, SLC6A4 gen ekspresyonunu doğrudan modüle edebileceği öngörülmektedir. Bu bulgu, kanser progresyonunda sıklıkla gözlenen hipoksi kaynaklı hücrel adaptasyon süreçleri ile serotonerjik sistem arasındaki moleküler köprüyü açıklaması bakımından büyük önem taşımaktadır. Özellikle katı tümörlerde (solid tumors) hipoksinin serotonin transport mekanizmalarını değiştirerek tümör invazyonunu ve anjiyogenezi teşvik etme potansiyeli, bu bağlamda dikkat çekicidir.

```

GTGAGCAGCAGTGCCGTTTAAGGACCAGTCGGGCTTGCAAATGCATAATGGGAACGCAGAAAGGCCAT
GTGCAGATAGACTGGACACAGCCGGAGGCAGCTCAAATCTGCCCAACCTTCCTAGGGGCTAAAAGAC
GAGTGACAGAATCTGTAGCTGA
TGAGCTGGGGTGCCCTCACGAAGGGTGGCCTTTTACCTCTGTCTTTGCTTTTTCTTTTAAATCATAGCT
GTAGTTGATATAAATA
TAACTTTGGGTGTGCAGCTTAAATGATGGTGAGGACTGCTCTGCCTGCTGAAAGGCAGAAACGCCTTTGCT
TGTCATTGTTCCCAACA
TAGCATCCAAGACAAAGGGGTGCTCTGTGACGCTTTGGAGCCTCTCTCACATTCTTCTGAGCTGCTGGC
AAACCAACAAGATGAGAGTCC
AGTGGCTCAAAGGGAAGCGAGTGCTTTGCTCTCCAGTCCAGCCTGTGCAAACCTTGGTGATTGCTGTCT
ATTGTGTTGGTTTATTGT
TTCCTTTTGAATTACTTGATTGTCATTGATGCCCTGTATAGTTGAGAAATTTAGTTGAATTATGGACTGCC
ATGTAGCAATAGGA
TGTCTCACATTTAACAGATGCATTGTAATCCCGTTAACTAATGTAGTTAAGATGTATGATGAGTTAATACCA
AGATGAGTAAATGT
CTAACTTTTTCTCCTTCTGTGTCTTTTCAACAGAGTCAATCCCGACGTGCAATCCCGACGATAGA
GAGCTCGGAGGTGATCCA
CAAATCCAAGCACCCAGAGATCAATTGGGATCCTTGGCAGATGGACATCAGTGTCATTACTAACCAGCA
GGATG

```

BAŞLANGIÇ KODONU

Şekil 3.12: NCBI veri tabanı kullanılarak elde edilen SLC6A4 genine ait promotör dizisi

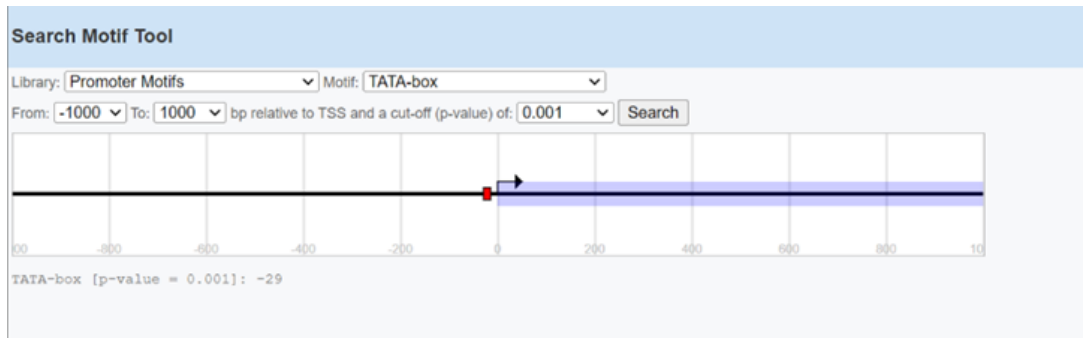
Sequence Retrieval Tool

Get sequence SLC6A4_1 from to bp relative to TSS

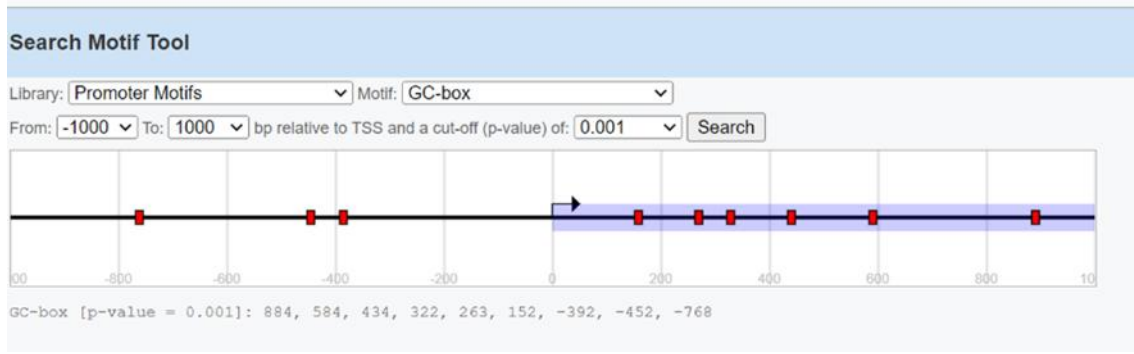
☐ lower case upstream TSS

```
>FP022998 SLC6A4_1 :+U EU:NC; range -1000 to 1000.
TTTGAATAAATATCAAACTACATGCACATGGTTCAAACAATAGGCTCCTGCTGGGCC
CTTTAGATAATTCAAATTGTCCAGGTTGGAGTGCAGTGGTTGCATCAGGCTCACTG
CAGCCTCGACCTCCCGGGCTCAGCTGATCCTCCACCTCAGCCTCCTGAGTAGCTGGGAAC
ACAAGCGCGAGCAACACGCCCGGCTAATTAATAAATTTTTTCTAGAGATGGGGTCT
TGCTGTGTTGCCAGGCTGGTCTTGAATTCCTGGGCTCAAGCAATCCTCCCGCTCAGCC
TCCCAAGCACTGTGCTCCTTTTGACGCAGCTTTGAACTGTAGCTGGTTAACAAATGA
GAACAGTTCTTCATTCTTCATTGTGGAAGTCTTTATTGTGAGACTCTGGGACGGAGA
GGAATTAGACAAGGGCTCTAAGCTGAGCTCAGATCCAGCCGGTCAGTCAGATAAACGC
ATGGGTATCGAGTACTGTAGTCCAGGAGAAAGAGAGAGAGAGCTTTCCGGATGGGGA
CGATGGGAGGTGTCCGAGGTCAAGAGAAAGCGGCACGAGCAGACCCCTGTGTCCGTCC
TGTGGGCGCGGGCGGAGGGGAGGCGCACCTGCTCCTTTGTGACGCTCCCGCTCC
CGCAAAAGTTAAAGAGCAGAAAGTCAGGATTCTCGCTCGGCCCTGCCCTGCCGGTGTCT
CGGGCTCCGCTCCTCCCTGCGAGCGTGTGTGTGTGTGGGGTCCCTCCCTCCTGGCT
CTGGGTCGGGCGCGCACCCCGCCCTAGCGCGGCCCTCCCTGGCGAGCGCAACCCCA
TCCAGCGGAGCGCGGAGCCGCGCGCGCGGGGAGCATTAAAGTTTATTCGCTCAAAGTG
ACGCAAAATTTCTCAAGAGCTCTTTGGCGCGGCTATCTAGAGATCAGACCATGTGAGG
GCCCGCGGTACAAATACGGCGCGCGCGGCCCTCCGCACAGCCAGCGCGCGCGGTG
CCTCGAGGCGCGAGGCGCGCGCTGCCAGCCCGGGACCGCTCCCGCGCAGCCT
GGCAGGTGGGTCCGCTTTTCTCTCCGCTCGAACCCAGTTTCTTTCCAGACCTTCTTC
CCCGCTCGGGGAGGGGATAGAACCGCTGCGCCCCACCGCCTGCGAGGAGCGAGGAG
GTGATCGCCCCAGCGTGGGCGCGGATCCTGCCCTGCGCCCTCCACGCTCAGCAAG
AGCCAGAGCTGAAGCTGACCGGCCAGAGTGGGAGACGAGAACGTGGAGTCTCGAAGTG
GGCGGGCTAGGGGCTCCTTTGTCTATTGTGAGGGGCTTTGCAACCTCTTGAGGACC
CGTGAAAGACCCCTTAAAGAGGCTCTGAGCAAGTGTGTCTGCGCTTTGGGAGAGT
TGCTTGCTTTTCGTTCAACCATGGTTTATGTTGATCTTTACTTTGCTGTCATCGGCTG
CAGGTGGCTTTATGCAAGGAGAGTCTGTTGACACAAATGCCAGACAGCTAGAGAA
ATCTCTGAGTGGCGCTAAGTGGCGGAGTCTCCGTGCGCTGGGTGGTTTCACTGTGAG
AGCTGAGCGCTCTCAGACACCTCAGAGCCATTGAGATGTATGTGAACTCCAACTCC
AACGACTGTGCTACGTGGTTGAAGGATATAACCATATTGCTTGAAATTTGTATACATT
CAAACTTGTCTTTGAAAAAAGCTCTCTGAGCTCAAGAGTGGATTGGGTCTTGGGCTA
AGGAGCAGATTTCTTCTGAACTGGGGCTTTTGCATATTGAATTGTTCTTTCCATTG
GGACTCTGAAGAAATTGAGAGGGTGAATTTCTGAATCAGACATTACAAAGACTTTGTG
TATGTATTTTACCATCAGTTTGTCCAGAAAGTGAACCTGGTCAATGGATTATTTATG
AGCCTGCTAGCTAACTCTCAT
```

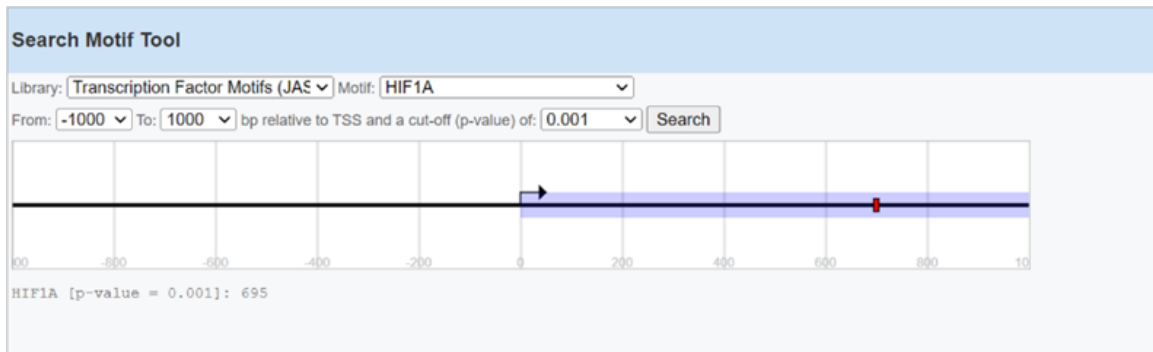
Şekil 3.13: EPD veri tabanı kullanılarak elde edilen SLC6A4 genine ait promotör dizisi



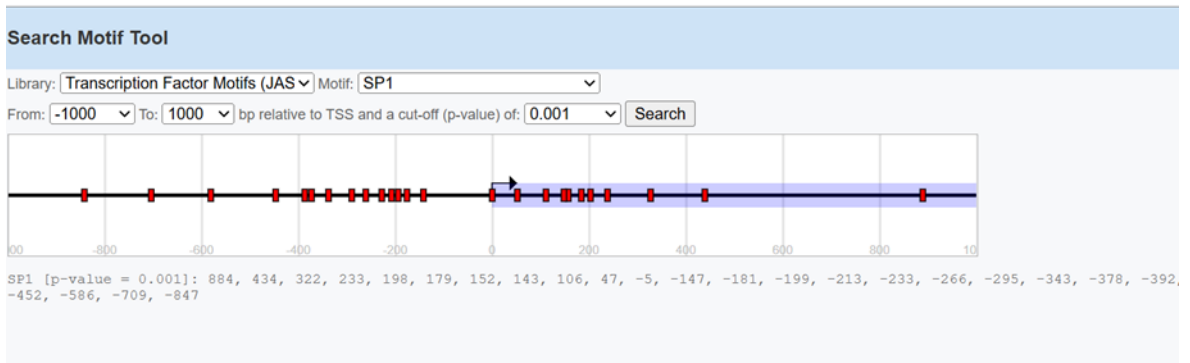
Şekil 3.14: EPD veri tabanı kullanılarak elde edilen SLC6A4 genine ait promotör dizisi üzerindeki TATA-box bağlanma bölgesi



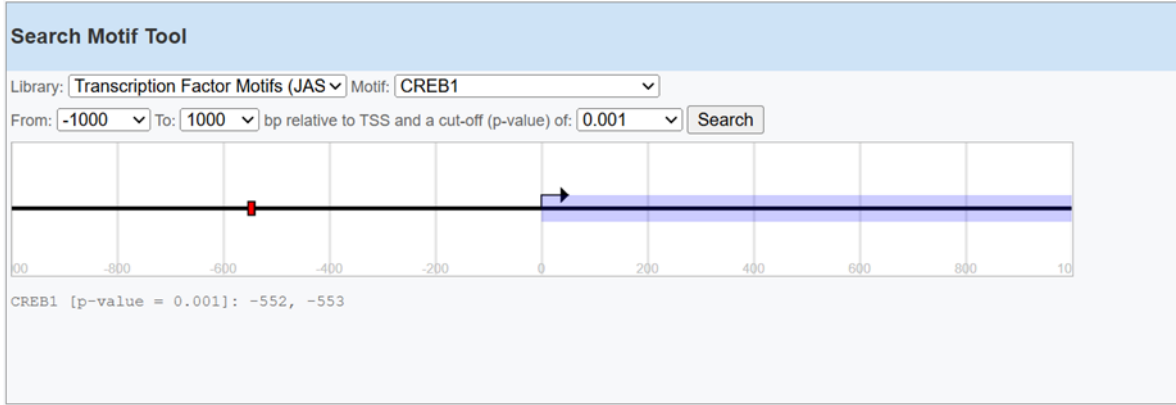
Şekil 3.15: EPD veri tabanı kullanılarak elde edilen SLC6A4 genine ait promotör dizisi üzerindeki GC-box bağlanma bölgesi



Şekil 3.16: EPD veri tabanı kullanılarak elde edilen SLC6A4 genine ait promotör dizisi üzerindeki HIF1A transkripsiyon faktörü bağlanma bölgesi



Şekil 3.17: EPD veri tabanı kullanılarak elde edilen SLC6A4 genine ait promotör dizisi üzerindeki SP1 transkripsiyon faktörü bağlanma bölgesi



Şekil 3.18: EPD veri tabanı kullanılarak elde edilen SLC6A4 genine ait promotör dizisi üzerindeki CREB transkripsiyon faktörü bağlanma bölgesi

3.6 KEGG Pathways ve String Analizi Sonuçları

Serotonerjik sinyal yolaklarının moleküler mekanizmalarını ve kanser patogenezi ile etkileşimini haritalandırmak amacıyla KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) Pathways veri tabanı kullanılarak yolak analizi gerçekleştirilmiştir. Yapılan biyoinformatik değerlendirmeler sonucunda, serotonin sinyalizasyonunun hücre kaderini tayin eden şu kritik yollar üzerinde regülatör bir role sahip olduğu belirlenmiştir: MAPK/ERK Yolağı: Hücre proliferasyonu, farklılaşması ve tümör büyümesinin temel itici gücü olan mitojenik sinyal iletimi.

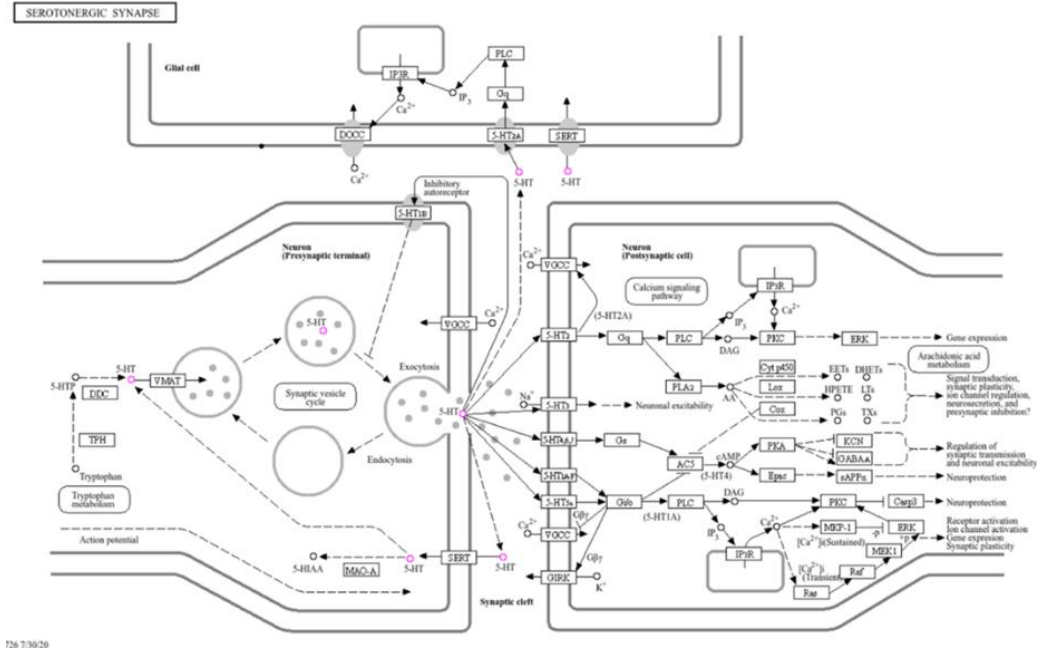
PI3K/Akt Yolağı: Kanser hücrelerinde apoptoz direnci, hayatta kalma (survival) ve metabolik yeniden programlama süreçlerinin ana düzenleyicisi.

KEGG analizlerinden elde edilen bu veriler, serotonerjik sistemin (özellikle SLC6A4 aracılı serotonin taşınımının) klasik nörotransmitter işlevlerinin ötesine geçerek, kanser biyolojisinde agresif fenotipleri destekleyen bir sinyal merkezi olarak işlev gördüğünü desteklemektedir.

Analizler, serotonin reseptörleri ve taşıyıcıları aracılığıyla tetiklenen sinyallerin, büyüme faktörü reseptörleri (EGFR, IGF-1R vb.) ile cross-talk yaparak onkojenik sinyal yükünü artırdığını göstermektedir.

Daha önce saptanan HIF bağlanma bölgesi ile KEGG sonuçları birlikte değerlendirildiğinde; hipoksik koşullarda aktive olan PI3K/Akt yolağının, SLC6A4

ekspresyonu üzerinden tümörün kemosenitivitesini ve hayatta kalma kapasitesini modüle edebileceği düşünülmektedir.



Şekil 3.19: KEGG Pathways veri tabanı kullanılarak elde edilen serotonin sinyal yolu

Serotonerjik sistemin evrimsel süreçteki korunmuş yapısını incelemek amacıyla, insanlarda serotonin geri alımından sorumlu olan SLC6A4 proteini ile model organizma *Caenorhabditis elegans*'taki ortoloğu olan MOD-5 arasındaki fonksiyonel benzerlikler STRING veri tabanı üzerinden analiz edilmiştir. Yapılan ağ analizi (PPI network), her iki proteinin de sinaptik vezikül döngüsü ve nörotransmitter taşıma mekanizmalarıyla ilişkili benzer protein etkileşim partnerlerine sahip olduğunu ortaya koymaktadır (Şekil 47).

Şekil 3.19'da İnsan SLC6A4 (Serotonin Taşıyıcısı) Protein Etkileşim Ağı ve Fonksiyonel Partnerleri şekilde, yüksek güven skoruna (confidence score) sahip etkileşim gösteren temel proteinler ve bu proteinlerin biyolojik süreçlerdeki rolleri sunulmuştur: Serotonin Reseptörleri (HTR1A, HTR2A, HTR1B): Serotonerjik sinyalleşmeyi yürüten G-proteini kenetli reseptörlerdir. Özellikle HTR1A (0.978) ve HTR1B (0.942) adenilat siklaz aktivitesini inhibe ederken, HTR2A (0.968) çeşitli psikoaktif maddeler için de hedef bölge oluşturarak aşağı akış sinyal yollarını modüle eder.

Nörotransmitter Metabolizması (TPH1, TPH2, COMT, MAOA): Serotonin biyosentezinde hız kısıtlayıcı enzimler olan triptofan hidroksilazlar (TPH1/2, 0.961/0.931) ve biyojenik aminlerin inaktivasyonundan sorumlu olan MAOA (0.943) ile COMT (0.950) enzimleri, sinaptik serotonin dengesinin korunmasında SLC6A4 ile koordineli çalışmaktadır.

Sinaptik Vezikül Döngüsü ve Ekzositoz (STX1A): Syntaxin-1A (0.932), SNARE kompleksinin bir bileşeni olarak nörotransmitterlerin presinaptik membrandan salınımını ve vezikül füzyonunu yöneterek taşıyıcı proteinin fonksiyonel çerçevesini tamamlar.

Nöroplastisite ve Dopaminerjik Etkileşim (BDNF, DRD4): Nörotrofik faktör BDNF (0.925) sinir hücresi sağlığı ve sinaptik plastisiteyi desteklerken, dopamin reseptörü DRD4 (0.985), emosyonel davranışların düzenlendiği mezolimbik sistemde serotonin ve dopamin yolları arasındaki çapraz etkileşimi simgelemektedir.

Şekil 3.19 B’de *C. elegans* MOD-5 Protein Etkileşim Ağı ve Serotonerjik Yolak Bileşenleri incelendiğinde; MOD-5 (Serotonin Transporter) ile fonksiyonel veya fiziksel etkileşim içerisinde olduğu belirlenen aday proteinler ve bu etkileşimlerin güven skorları sunulmuştur. Analiz edilen genler ve protein alanları şu şekildedir:

tph-1: Triptofan hidroksilaz (BH4_AAA_HYDROXYL_2 domain); serotonin biyosentezinde hız kısıtlayıcı enzimdir.

ser-1, ser-3, ser-4, ser-5 ve ser-7: G-proteini kenetli reseptör (GPCR) ailesine (G_PROTEIN_RECEP_F1_2 domain) mensup serotonin reseptörleri.

mod-1: Serotonin kapılı klorür kanalı; ligand kapılı iyon kanalları ailesine üye özel bir reseptör.

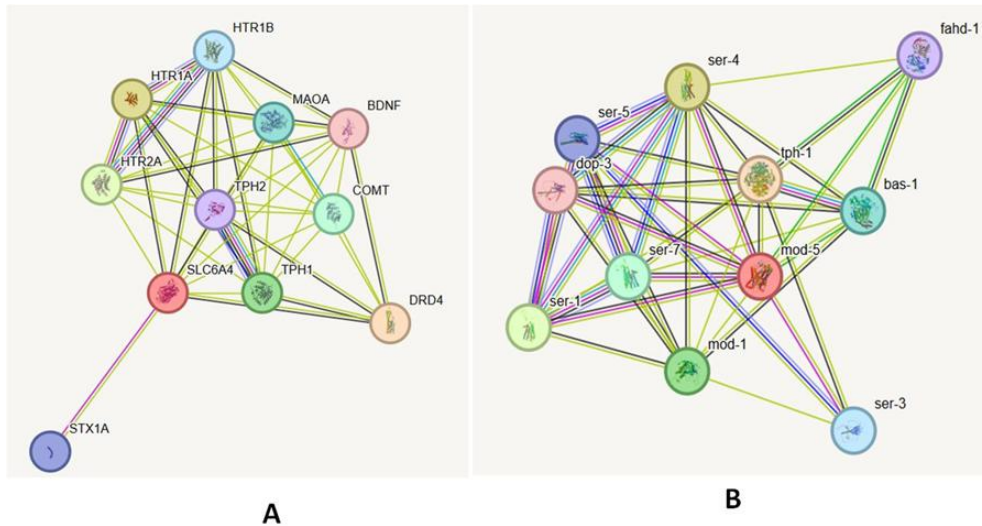
bas-1: Biyojenik amin sentezi ile ilişkili (Biogenic Amine Synthesis related), dekarboksilaz aktivitesi gösteren protein.

fahd-1: Fumarilasetoasetat hidrolaz alanı içeren protein; muhtemel hidrolaz aktivitesi ile metabolik süreçlerde rol oynar.

dop-3: Dopamin reseptörü-3; dopaminerjik sinyalleşmeyi kontrol eden ve adenilat siklaz aktivitesini modüle eden G-proteini kenetli reseptör.

STRING veri tabanı üzerinden gerçekleştirilen protein-protein etkileşim (PPI) analizleri (Şekil 3.20), serotonin taşıma mekanizmasının moleküler bileşenlerinin insandan *C. elegans*'a kadar evrimsel süreçte yüksek düzeyde korunduğunu çarpıcı bir şekilde ortaya koymaktadır. İnsan SLC6A4 ağı ile *C. elegans* MOD-5 etkileşim haritası kıyaslandığında, her iki sistemde de serotonin biyosentezinden sorumlu triptofan hidroksilazlar (TPH1/2 ve tph-1) ile geniş bir serotonin reseptör ailesinin (HTR/ser serisi) merkezi düğüm noktalarını (nodes) oluşturduğu görülmektedir.

Özellikle, insanlarda nöroplastisiteyi ve sinaptik bütünlüğü sağlayan STX1A (Syntaxin-1A) ve BDNF gibi bileşenlerin, *C. elegans* ağındaki sinaptik vezikül döngüsü proteinleriyle (Örn: mod-1 ve bas-1 yoluyla sinaptik fonksiyonlar) işlevsel bir paralellik sergilemesi dikkat çekicidir. Ayrıca, her iki modelde de dopaminerjik sistemle (DRD4 ve dop-3) kurulan çapraz etkileşim, serotonerjik sistemin tek başına değil, kompleks bir nörotransmitter ağının parçası olarak evrildiğini doğrulamaktadır. Bu moleküler benzerlik, *C. elegans* modelinde elde edilen bulguların, insan fizyolojisindeki serotonin regülasyon bozukluklarını ve ilgili nöropatolojik süreçleri anlamlandırmak için yüksek bir biyolojik temsil gücüne sahip olduğunu kanıtlamaktadır.

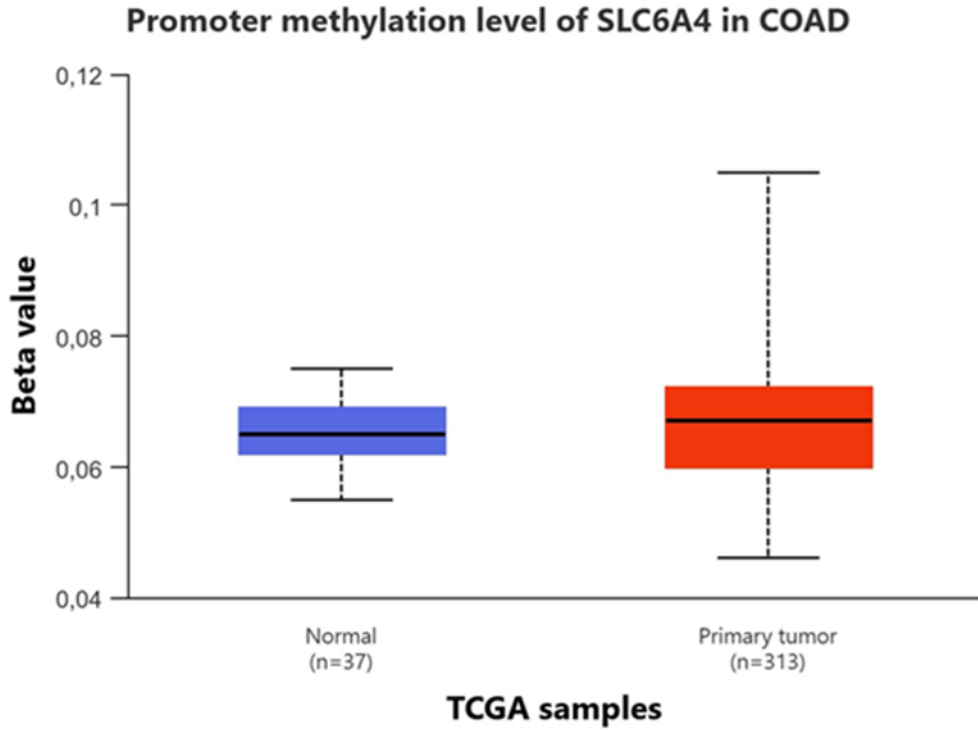


Şekil 3.20: String Pathways veri tabanı kullanılarak elde edilen SLC6A4 (A) ve MOD-5 (B) ilgili protein ilişkileri

3.7 UALCAN Sonuçları

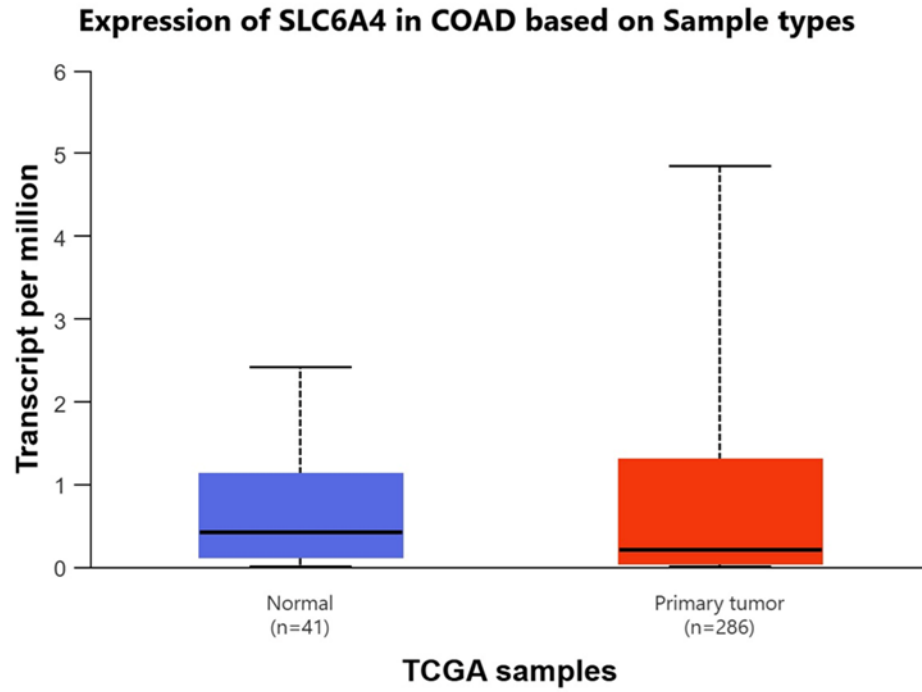
3.7.1 Kolon Adenokarsinoma İçin UALCAN Sonuçları

UALCAN veri tabanında yapılan analizlere göre COAD (kolon adenocarcinoma) tümör dokularındaki ortalama Beta değeri (0,067), normal dokulara (0,069) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir azalma sergilemektedir ($p = 2.99 \times 10^{-12}$). Ancak Beta değeri, o bölgedeki DNA'nın ne kadarının "metil grubu" ile kaplı olduğunu gösteren 0 ile 1 arası bir orandır. 0: Tamamen metillenmemiş (Genellikle gen ifadesi açıktır); 1: Tamamen metillenmiş (Genellikle gen ifadesi kapalıdır). Gözlenen bu global hipo-metilasyon durumu, SLC6A4 geninin transkripsiyonel olarak aktif bir kromatin yapısında olduğunu ve çevresel stresörlere (örneğin hipoksi) hızlı yanıt verebilecek bir "açık" pozisyonda bulunduğunu göstermektedir.



Şekil 3.21: SLC6A4 Geninin Tümör ve Normal Dokulardaki DNA Metilasyon Analizi. UALCAN veritabanı (TCGA veri seti) üzerinden yapılan analizde, SLC6A4 promoter bölgesinin hem normal hem de tümör dokularında bazal olarak çok düşük metilasyon seviyelerine (Beta < 0.1) sahip olduğu belirlenmiştir

UALCAN veri tabanında yapılan analizlere göre Kolon adenokarsinomu (COAD) dokuları ile sağlıklı kolon dokuları arasında, bazal koşullarda SLC6A4 mRNA ifadesi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır (Normal: 0,426 TPM; Tümör: 0,212 TPM). Primer tümör ve sağlıklı kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p = 0.562$). Bu düşük bazal transkripsiyon profili, Şekil 20 'de sunulan düşük promoter metilasyonu ile birlikte değerlendirildiğinde; SLC6A4'ün normal fizyolojik koşullarda minimal düzeyde ifade edildiği, ancak epigenetik olarak "açık" yapısı sayesinde hipoksi gibi patolojik stres faktörlerine karşı hızlı transkripsiyonel yanıt verme potansiyeline sahip olduğu sonucuna varılmıştır.



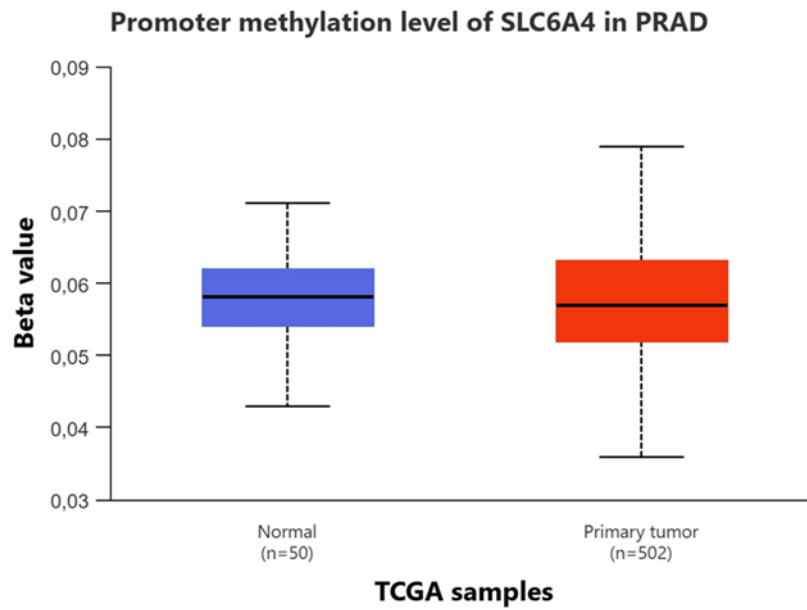
Şekil 3.22: COAD Dokularında SLC6A4 mRNA Ekspresyon Analizi (TPM).

UALCAN veritabanı analizine göre, SLC6A4 geninin kolon dokusunda bazal ekspresyon seviyelerinin oldukça düşük olduğu saptanmıştır (Normal: 0,426 TPM; Tümör: 0,212 TPM). Primer tümör ve sağlıklı kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p = 0.562$). Bu düşük bazal transkripsiyon profili, Şekil 20'de sunulan düşük promoter metilasyonu ile birlikte değerlendirildiğinde;

SLC6A4'ün normal fizyolojik koşullarda minimal düzeyde ifade edildiği, ancak epigenetik olarak "açık" yapısı sayesinde hipoksi gibi patolojik stres faktörlerine karşı hızlı transkripsiyonel yanıt verme potansiyeline sahip olduğu sonucuna varılmıştır

3.7.2 Prostat adenokarsinoma için UALCAN sonuçları:

TCGA verileri üzerinden yapılan DNA metilasyon analizi (Şekil 3.23), ilgili genin promotör bölgesindeki metilasyon durumunun normal ve tümör dokuları arasında anlamlı farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur. Normal doku (n=50) ve birincil tümör (n=502) grupları arasında gerçekleştirilen karşılaştırmada, metilasyon seviyeleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p = 0.028$). Analiz kapsamında kullanılan Beta değerleri (0-1 aralığı), tümör dokularındaki metilasyon paterninin normal dokudan saptığını ve bu epigenetik modifikasyonun prostat adenokarsinomu (PRAD) patogenezinde potansiyel bir rol oynayabileceğini göstermektedir.

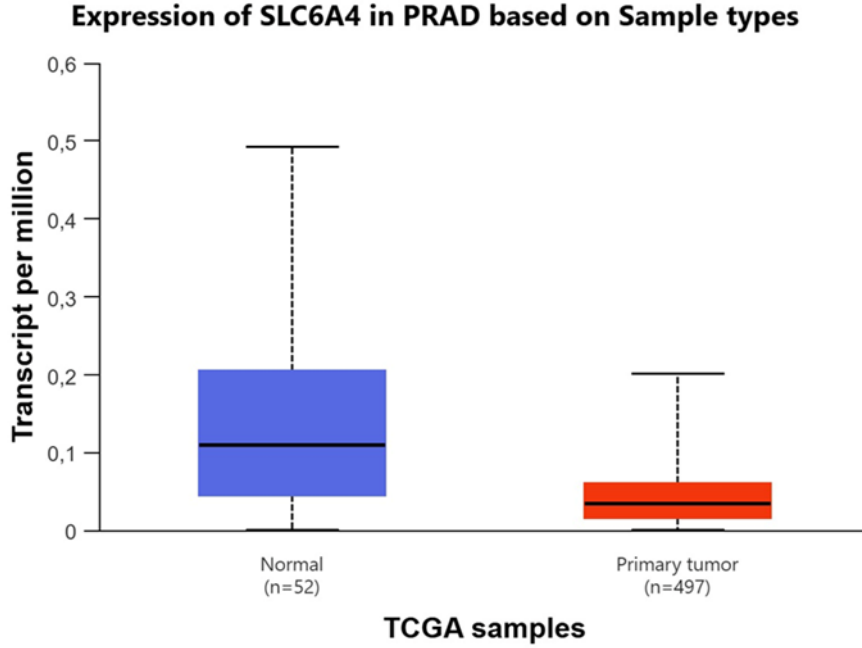


Şekil 3.23: PRAD Örneklerinde SLC6A4 Promotör Metilasyon Analizi.

Normal (n=50) ve birincil tümör (n=502) dokuları arasında SLC6A4 promotör metilasyon seviyeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p = 0.028$). Beta değerleri üzerinden sunulan veriler, genin prostat kanserinde anlamlı bir epigenetik değişim sergilediğini göstermektedir.

TCGA veri setleri kullanılarak UALCAN platformu üzerinden gerçekleştirilen biyoinformatik analizde (Şekil 3.22), ilgili genin prostat adenokarsinomu (PRAD) dokularındaki mRNA ekspresyon seviyeleri değerlendirilmiştir. Normal prostat dokuları (n=52) ile birincil tümör dokuları (n=497) arasında yapılan karşılaştırmalı analizde (Unpaired t-test), gen ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ($p = 0.911$). Elde edilen bu veriler, söz konusu genin prostat kanseri

dokularında normal dokuya kıyasla transkripsiyonel düzeyde belirgin bir değişim sergilemediğini ortaya koymaktadır.

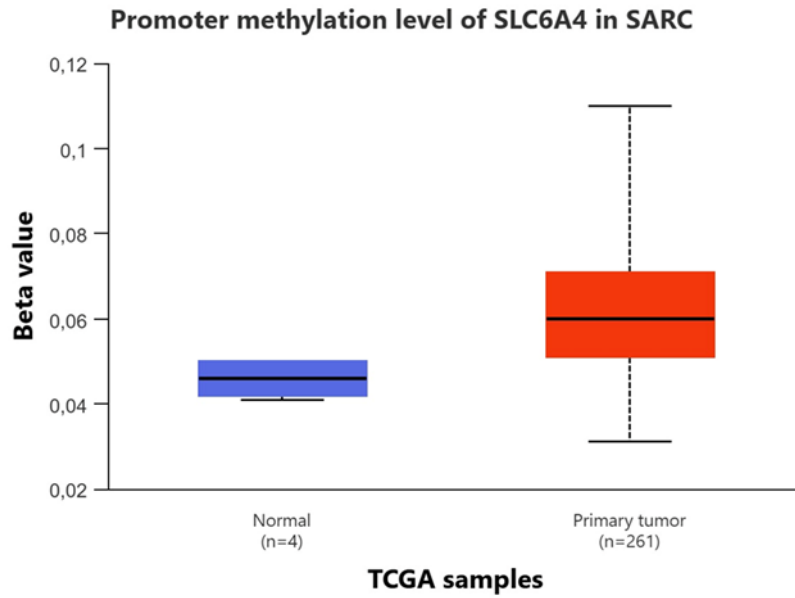


Şekil 3.24: PRAD (Prostat Adenokarsinoma) Örneklerinde SLC6A4 mRNA Ekspresyon Seviyeleri. TCGA veri seti analizinde, normal prostat dokusu (n=52) ile birincil tümör dokusu (n=497) arasında SLC6A4 ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p = 0.911$). Değerler TPM birimiyle sunulmuş olup, veriler genin PRAD dokularında bazal düzeyde stabil bir transkripsiyonel profil sergilediğini göstermektedir

Bulgularımız bu genin PRAD patogenezinde transkripsiyonel bir biyobelirteç olmaktan ziyade, epigenetik düzeyde bir değişim sinyali taşıdığını göstermektedir. PRAD analizlerinde (Şekil 3.23) gözlenen anlamlı promotör metilasyonu farklılığı ($p = 0.028$), mRNA düzeyindeki statik benzerliğe ($p = 0.911$) rağmen genin epigenetik olarak aktif bir regülasyon sürecine girdiğini göstermektedir. Bu durum, SLC6A4'ün PRAD patogenezinde de bazal koşullarda değil, belirli mikroçevresel sinyaller (örneğin androjen seviyeleri veya hipoksi) varlığında aktive olabilecek şekilde epigenetik olarak modüle edildiğini düşündürmektedir. Bu metilasyon farkının fonksiyonel sonuçlarını anlamak için genin farklı klinik evrelerdeki durumu veya protein düzeyindeki (Western Blot) karşılığı incelenmelidir.

3.7.3Sarkoma için UALCAN Sonuçları

Sarkom (SARC) örneklerinde SLC6A4 geninin epigenetik regülasyonunu belirlemek amacıyla yapılan promotör metilasyon analizi (Şekil 3.24), tümör dokuları (n=502) ile normal dokular (n=4) arasında farklılık ortaya koymuştur ($p = 1.25 \times 10^{-7}$). Tümör grubunda gözlenen bu dramatik metilasyon değişimi, genin transkripsiyonel susturulması (silencing) ile doğrudan korelasyon göstermektedir. Elde edilen Beta değerleri ve istatistiksel anlamlılık düzeyi, SLC6A4 promotör metilasyonunun sarkom patogeneğinde kritik bir epigenetik biyobelirteç olma potansiyelini desteklemektedir.

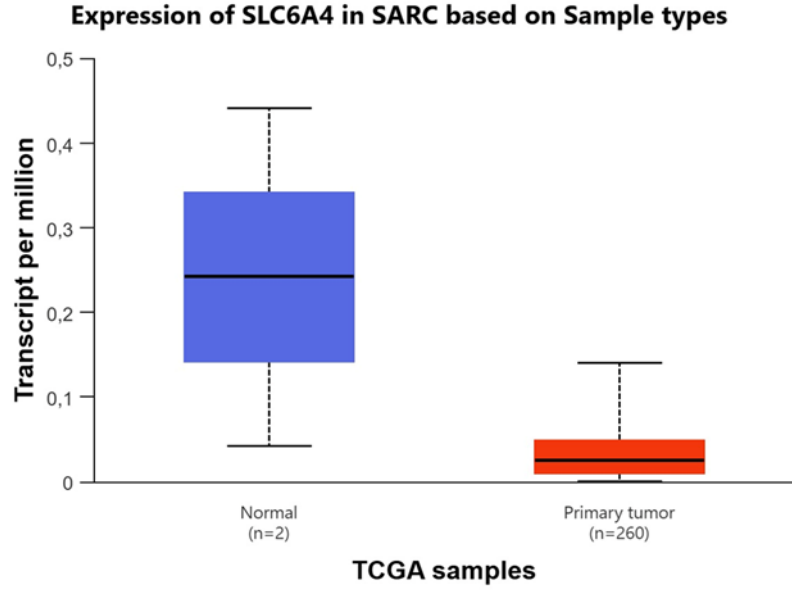


Şekil 3.25: SARC Dokularında SLC6A4 Promotör Metilasyon Seviyeleri. TCGA veri seti analizine göre, normal ve birincil tümör dokuları arasında SLC6A4 promotör metilasyon düzeyleri açısından ileri derecede anlamlı fark saptanmıştır ($p = 1.25 \times 10^{-7}$).

Beta değerleri üzerinden sunulan veriler, genin sarkomda güçlü bir epigenetik modülasyona maruz kaldığını ve bu durumun mRNA ekspresyonundaki düşüşle uyumlu olduğunu göstermektedir

Sarkom (SARC) örneklerinde SLC6A4 mRNA ekspresyon seviyeleri incelendiğinde, birincil tümör dokularında (n=260) gen ifadesinin sağlıklı dokulara (n=2) kıyasla dramatik bir düşüş sergilediği gözlemlenmiştir. Sağlıklı dokularda 0,242 TPM olan medyan ekspresyon değeri, tümör dokularında 0,025 TPM seviyesine gerilemiştir. Kontrol grubu örnek sayısının kısıtlılığına bağlı olarak istatistiksel anlamlılık eşiğine ulaşamamış olsa da ($p = 0.955$), tümör grubundaki verilerin dar bir düşük ifade aralığında (0-0,141 TPM)

kümelenmesi, SLC6A4 geninin sarkom hücrelerinde sistematik olarak baskılandığına işaret etmektedir.



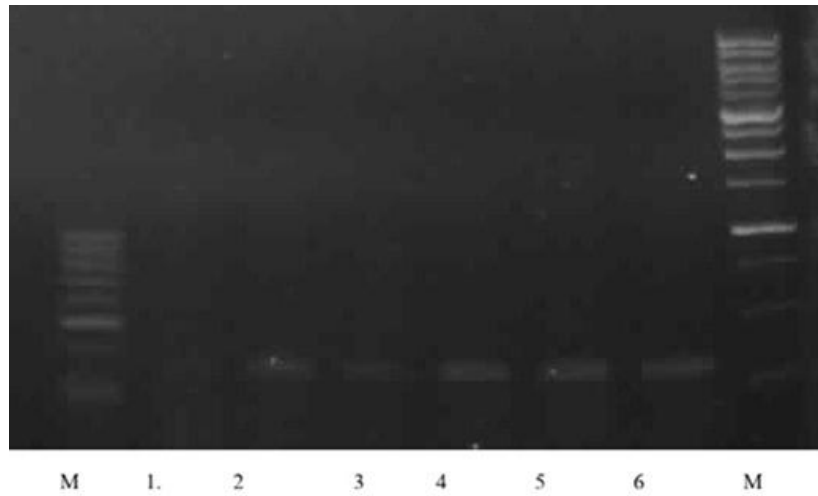
Şekil 3.26: SARC Dokularında SLC6A4 mRNA Ekspresyon Profili. TCGA veri setindeki sarkom (n=260) ve normal (n=2) doku örneklerinin karşılaştırmalı analizi sunulmuştur. Tümör dokularında medyan ekspresyon seviyesinin sağlıklı örneklerle oranla yaklaşık 10 kat düşük olduğu saptanmıştır (0,025 ile 0,242 TPM). Yetersiz kontrol grubu sayısı nedeniyle p-değeri anlamlılık düzeyinin altında kalmış olsa da (p = 0.955), görsel veriler tümör progresyonuyla ilişkili bir transkripsiyonel azalma eğilimi göstermektedir

Sarkom (SARC) veri setinde SLC6A4 genine yönelik gerçekleştirilen multi-omik entegrasyon, genin tümör progresyonu sırasında epigenetik bir susturulmaya (silencing) maruz kaldığını göstermektedir. Promotör metilasyonunda gözlenen aşırı derecede anlamlı artış (p = 1.25times 10⁻⁷), mRNA ekspresyon seviyelerindeki dramatik düşüşle (0,242'den 0,025 TPM'e) tam bir uyum içerisinde. Tümör dokularında ekspresyonun dar bir aralıkta stabilize olması, bu genetik baskılanmanın rastlantısal olmadığını, aksine metilasyon aracılı kararlı bir transkripsiyonel blokajın sonucu olduğunu kanıtlamaktadır. Sağlıklı kontrol grubu örnek sayısının kısıtlılığına bağlı olarak mRNA düzeyinde istatistiksel anlamlılık (p > 0.05) sağlanamamış olsa da metilasyon verilerinden elde edilen yüksek anlamlılık düzeyi, SLC6A4'ün sarkom patogenezinde kritik bir epigenetik belirteç olduğunu doğrulamaktadır.

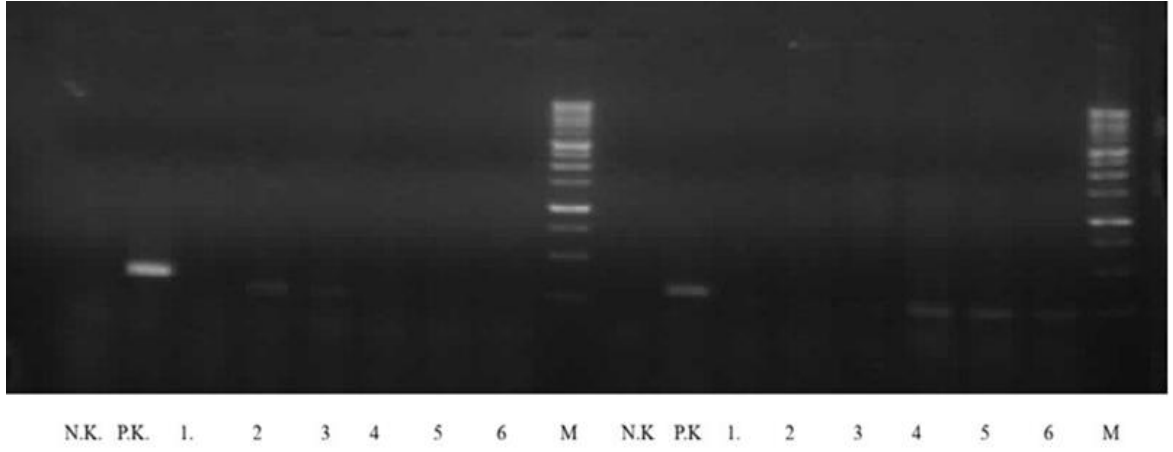
3.8 In-vitro Çalışmalar

3.8.1 Farklı Hücre Hatlarında SLC6A4 mRNA İfadesinin Belirlenmesi

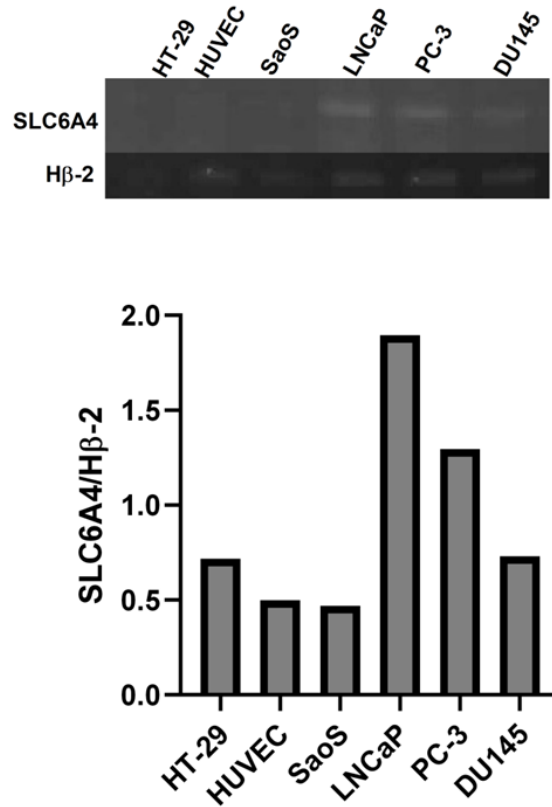
Kolon kanseri (HT-29), prostat kanseri (PC-3, LNCap), Sarkoma (Saos-2), karaciğer karsinomu (Hep3B) ve sağlıklı göbek kordonu hücre hattı (HUVEC) olmak üzere farklı hücre hatlarında SLC6A4 gen ifadesinin belirlenmesi amacıyla, hücre kültüründe standart koşullar altında büyütülen hücrelerden öncelikle toplam RNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen RNA örneklerinin saflık ve konsantrasyon analizlerinin ardından, ters transkripsiyon yöntemi ile tamamlayıcı DNA (cDNA) sentezi yapılmıştır. Sentezlenen cDNA'lar, gen ifadesi analizlerinde kalıp (template) olarak kullanılmıştır. Deneyin doğruluğunu ve hücreler arası cDNA miktarını normalize etmek amacıyla, öncelikle housekeeping (internal) gen olan insan beta-2-mikroglobulin (H β 2) ifadesi incelenmiştir. İç kontrol geninin tüm örneklerde kararlı bir şekilde ifade edildiğinin teyit edilmesinin ardından, klasik PCR yöntemi ile SLC6A4 genine spesifik primerler kullanılarak ifade analizleri gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar agaroz jel elektroforezinde görüntülenmiş ve farklı hücre hatlarındaki ifadesi karşılaştırılmıştır.



Şekil 3.27: Farklı hücre hatlarındaki H β 2 PCR sonuçlarına ait agaroz jel elektroforezi sonuçları (M: 50bp Marker, 1: HT29, 2: HUVEC, 3: SAOS, 4: LNCAP, 5: PC-3, 6: DU145, M: 1KB Marker)



Şekil 3.28: SLC6A4 PCR sonuçlarına ait agaroz jel elektroforezi (N.K: Negatif Kontrol, P.K: Pozitif Kontrol, 1: HT29, 2: HUVEC, 3: SAOS, 4: LNCAP, 5: PC-3, 6: DU145, M: 1KB Marker; N.K: Negatif Kontrol, P.K: Pozitif Kontrol 1: HUVEC 72h Hipoksi, 2: HUVEC 72h Normoksi, 3: HUVEC 48h Hipoksi, 4: HUVEC 48h Normoksi., 5: HUVEC 24h Hipoksi, 6: HUVEC 24h Normoksi, M: 1KB MARKER)C. elegans’da MOD-5 mRNA İfadesinin Belirlenmesi



Şekil 3.29: SLC6A4 mRNA ifadesinin densitometrik analiz sonucu

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışmasında insan SLC6A4 geni ile *Caenorhabditis elegans*'taki fonksiyonel ortoloğu MOD-5 geninin karşılaştırmalı olarak ele alınması, serotonerjik sinyalizasyonun evrimsel olarak korunmuş temel ilkelerini ortaya koymuştur. Literatür bulgularının bütüncül değerlendirilmesi, her iki gen ürününün de sinaptik aralıktaki serotonin düzeylerini sodyum/klor bağımlı geri alım mekanizmasıyla düzenlediğini ve bu düzenlemenin davranışsal çıktılar üzerinde belirleyici olduğunu göstermektedir.

C. elegans'ta MOD-5 işlev kaybının serotonerjik sinyalin uzamasına yol açması ve bunun lokomasyon, beslenme ve yumurtlama gibi ölçülebilir davranış fenotipleriyle sonuçlanması, serotonin geri alımının nörotransmitter homeostazı açısından merkezi rolünü desteklemektedir. Benzer biçimde, insan SLC6A4 genindeki fonksiyonel değişikliklerin psikiyatrik bozukluklarla ilişkilendirilmesi, model organizma bulgularının translasyonel değerini güçlendirmektedir. Bu paralellik, basit bir sinir sistemine sahip olmasına rağmen *C. elegans*'ın karmaşık davranışların moleküler temellerini çözmede etkili bir sistem olduğunu ortaya koymaktadır.

Serotonerjik nöronların sınırlı sayıda ve iyi tanımlanmış olması, *C. elegans*'ta gen-davranış ilişkilerinin doğrudan kurulmasına olanak tanımaktadır. Özellikle NSM, ADF ve HSN nöronlarından salınan serotoninin hem davranışsal düzenleme hem de çevresel stres sinyallerinin organizma geneline ve germ hattına iletilmesinde rol alması, serotoninin yalnızca nörotransmitter değil aynı zamanda nöroendokrin bir düzenleyici olarak da işlev gördüğünü düşündürmektedir. Bu durum, serotonerjik sinyalizasyonun organizma bütünlüğü üzerindeki etkilerinin memelilerde de benzer mekanizmalarla gerçekleşebileceğine işaret etmektedir.

Bununla birlikte, *C. elegans*'ın model organizma olarak kullanımının bazı sınırlılıkları da bulunmaktadır. Organizmanın basit sinir sistemi yapısı ve bazı memeliye özgü beyin bölgelerinin bulunmaması, elde edilen bulguların insan fizyolojisine doğrudan genellenmesini kısıtlayabilir. Ancak buna rağmen, SLC6A4/MOD-5 gibi yüksek derecede korunmuş genler üzerinden yapılan çalışmalar, temel mekanizmaların anlaşılması açısından güçlü bir çerçeve sunmaktadır.

Sonuç olarak bu tezde sunulan karşılaştırmalı değerlendirme, *C. elegans* mod-5 geninin insan SLC6A4 genine yönelik çalışmalarda güvenilir ve açıklayıcı bir model

oluşturduğunu göstermektedir. Serotonin geri alım mekanizmasının davranışsal ve fizyolojik etkilerinin bu model üzerinden incelenmesi, nöropsikiyatrik hastalıkların moleküler temellerinin aydınlatılmasına katkı sağlayabilecek niteliktedir.

Bu tez çalışmasında, insan serotonin taşıyıcısını kodlayan SLC6A4 geni ile *Caenorhabditis elegans*'taki fonksiyonel ortologu olan MOD-5 geni karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Literatür verilerinin değerlendirilmesi, her iki genin de sodyum/klor bağımlı taşıyıcılar ailesine ait olduğunu ve serotoninin sinaptik aralıktan geri alımında temel rol oynadığını ortaya koymuştur. Yapısal özellikler, ekspresyon paternleri ve işlevsel çıktılar açısından değerlendirildiğinde, mod-5 geninin insan SLC6A4 geninin temel fonksiyonlarını yüksek oranda yansıttığı görülmüştür.

C. elegans'ta serotonerjik sinyalizasyonun; lokomasyon, beslenme ve yumurtlama gibi temel davranışlar üzerinde belirleyici olduğu, özellikle MOD-5 genindeki işlev kaybının serotonerjik sinyalin uzamasına ve SSRI benzeri davranışsal fenotiplere yol açtığı anlaşılmıştır. Bu bulgular, serotoninin geri alım mekanizmasının nörotransmitter homeostazı ve davranışsal denge açısından kritik öneme sahip olduğunu göstermektedir.

Elde edilen veriler, *C. elegans*'ın basit sinir sistemi yapısına rağmen insan serotonerjik sisteminin temel moleküler ve fonksiyonel özelliklerini modelleyebildiğini ve bu yönüyle nöropsikiyatrik hastalıkların mekanizmalarının anlaşılmasında güçlü bir model organizma olduğunu desteklemektedir.

Biyoinformatik analizlerimizden elde edilen veriler, SLC6A4 geninin tümör mikroçevresindeki dinamik regülasyonuna dair kritik mekanizmalara ışık tutmaktadır. Literatürde hipoksinin, akciğer arter düz kas hücrelerinde (PA-SMCs) SLC6A4 (5-HTT) geninin transkripsiyonel aktivitesini doğrudan uyarabildiği; genin promotör bölgesi üzerinden sadece iki saat içerisinde mRNA seviyelerini %240 oranında artırarak serotonin geri alım kapasitesini üç katına çıkardığı deneysel olarak gösterilmiştir (Eddahibi, 1999). PA-SMC'lerde gözlenen bu transkripsiyonel yanıt, serotoninin mitojenik etkisini potansiyalize ederek kontrolsüz hücre proliferasyonunu ve vasküler yeniden şekillenme süreçlerini tetiklemektedir.

Bu çalışmada, biyoinformatik düzeyde COAD (Kolon) ve PRAD (Prostat) dokularında saptanan düşük metilasyon profili, epitel ve glandüler kökenli bu hücrelerin hipoksik stres

anında transkripsiyonel olarak hızla aktive edilebileceğine dair bir "epigenetik hazırlık" (epigenetic priming) durumuna işaret etmektedir. Buna karşın, SARC (Sarkom) verilerinde gözlenen ileri derecedeki hipermetilasyon, genin mezankimal kökenli tümör hücrelerinde epigenetik olarak susturulduğunu (silencing) ve hipoksik uyaranlara karşı duyarsızlaştığını düşündürmektedir.

Çalışmamız kapsamında gerçekleştirilen RT-PCR analizleri, SLC6A4 mRNA ifadesinin kanser hücre hatları arasında doku kökenine bağlı belirgin bir varyasyon gösterdiğini doğrulamıştır. Mezankimal kökenli bir osteosarkom hattı olan Saos-2 ve epitelyal kökenli kolon karsinom hattı HT-29 hücrelerinde saptanan düşük transkripsiyonel profil; biyoinformatik analizlerimizde SARC ve COAD veri setleri için öngörülen düşük bazal ekspresyon verileriyle yüksek korelasyon göstermektedir. Öte yandan, prostat kanseri modelleri olan DU145, PC-3 ve LNCaP hücre hatlarında saptanan nispeten daha yüksek mRNA seviyeleri, genin prostat kanseri patogenezinde daha aktif bir transkripsiyonel dinamizme sahip olduğunu kanıtlamaktadır.

Sonuç olarak, deneysel verilerimiz prostat kanseri hücre hatlarının hipoksik stres faktörlerine yanıt verebilecek "açık" bir transkripsiyonel kapasiteye sahip olduğunu; buna karşın Saos-2 gibi mezankimal hatlarda bu yolun epigenetik blokaj veya sıkı bir bazal regülasyonla baskılandığını ortaya koymaktadır. Bu bulgular, SLC6A4'ün doku tipine ve oksijenlenme düzeyine bağlı olarak değişen moleküler bir "anahtar" görevi gördüğünü ve özellikle prostat kanserinde kritik bir fonksiyonel rol üstlenebileceğini desteklemektedir.

Çalışmamızdan elde edilen veriler, SLC6A4 geninin tümör biyolojisindeki rolünün in vivo düzeyde araştırılması için *Caenorhabditis elegans* modelinin fonksiyonel bir platform olarak yüksek potansiyel taşıdığını göstermektedir. Kanser hücrelerinin karakteristik özelliği olan kontrolsüz proliferasyon kapasitesi, *C. elegans*'ın germ hattı (germline) hücrelerinde başarıyla modellenebilmektedir. Güncel literatürde, hipoksi yanıt faktörü olan HIF-1'in, ADF serotonerjik nöronları üzerinden hücre dışı (cell-nonautonomous) bir biyojenik amin ve peptid sinyal ağını aktive ederek organizma fizyolojisini modüle ettiği gösterilmiştir (Kitto, 2025). Söz konusu sinyal iletiminde SER-7 gibi spesifik serotonin reseptörlerinin gerekliliği kanıtlanmış olsa da, sinyalin sonlandırılması ve ekstraselüler serotonin homeostazının sağlanmasında kritik rol oynayan MOD-5 (insan SLC6A4

ortoloğu) taşıyıcısının bu koordineli hipoksik yanıtındaki regülatör işlevi henüz tam olarak aydınlatılmamıştır.

Kanserin metastatik yayılımında merkezi rol oynayan hücre göçü mekanizması, *C. elegans*'ta Distal Tip Hücre (DTC) göçü veya vulva gelişimi sırasındaki stereotipik hücre hareketleri ile dikkate değer paralellikler sunmaktadır. Bu bağlamda, serotonin reseptörlerinin (ser-1, ser-4 vb.) hücre iskeleti dinamikleri üzerindeki etkilerinin araştırılması, serotonerjik sistemin metastatik potansiyel üzerindeki modülatör etkilerinin anlaşılmasına katkı sağlayacaktır.

Ayrıca, tümör mikroçevresindeki hipoksik stresin serotonin yolağı ile etkileşimi, *C. elegans*'ta iyi tanımlanmış olan hif-1 mekanizması üzerinden modellenenebilir. Hipoksi koşulları altında mod-5 ifadesindeki değişimlerin ve bu değişimlerin hif-1 bağımlı sinyal iletimi üzerindeki etkilerinin izlenmesi, serotonerjik sistemin kanser hücrelerine sağladığı metabolik avantajların moleküler düzeyde analiz edilmesine imkan tanıyacaktır. Sonuç olarak, *C. elegans* modelinde gerçekleştirilecek genetik manipülasyonlar ve SSRI gibi serotonin yolağını hedef alan bileşiklerin ön taramaları, biyoinformatik ve in vitro verilerimizin fonksiyonel bir düzleme taşınmasını sağlayarak SLC6A4 odaklı yeni terapötik stratejilerin geliştirilmesine öncülük edecektir.

EKLER

5. EKLER

5.1 EK A:

NCBI Reference Sequence: NM_000871.3

GenBank Graphics

>NM_000871.3 Homo sapiens 5-hydroxytryptamine receptor 6 (HTR6), mRNA
GCACCCGGCCTCTCTCCGCGCTGCGGGCCCCCTCGCGGCGCCTCCCGGGCTCGGGAGACCCGGTCCCGC
CGCCCCCGCGCCCGCGCGCCCTCTTCTCTCGCAGCCCCGCGCGCTTGCCGAGTCGAGCGGCGG
AGCAGCCAGAGCGCCCCAGGTACAGTGCGGGCGGGAGACGGAGCGACCTGCTGCGGGTGGGGAGGG
GGCGCCGCGCGCGCGCTGCCCTCTCTTCCCGCGGGGCTGGCGGCCCGGGGAACCCCGCGCCGACA
GGCCGTGTGCGCCGATCCCGGTGCTCCGCGCAGCTGAGACCTGCCTTTCCAGGGGCGGCTTTGCTC
CGGCCCTAGGCCCCCGCCTGGTACCCACACGCCACCGCCCGCGGGAGCCTGCTCCGGCCCGAGAG
CGCCATTACCCCCCTACCCACCTCCCCCGCTTCCACTTCCCGCACTCTGACCCGGCCGGACGCC
CTCCCCATCTTGCGCCCGCCCCCTCCAGGGGGCTCTGCTCCACCCAGGGAGCCATCCGACCTCTG
CTTGACTTCCCGCGCTTCTTTCAGGGGCTCGGCTCATCGGGTGGCCCTCCCAAACTTCAACCCGTT
TGCTCCAGGAGTTCTTGCCCCATCCCCGAGGGCGCCAAATAGCCACACTGTGTCTCTGTAGTCGCTG
CCCCCTGACCTAGCGGACCCAGCGCCCCCGCCATGTCCCCCACTACCTCCCCGGGGGGCGTGGTG
AGTCGGGTCTGTCTCACGGACGGTCCCGCTCCAGCCTGCGCTTGCCTGGGGGCTCATCTGCTTTCCC
GCCACCCTATCACTCCCTTGCGCTCACCTCGGTCTCATGGTCCAGAGCGGGGCCAACCCCAATA
GCACCCCGGCTGGGGGGCAGGCGCGCCGTCGGCCCCGGGGGCGAGCGGTGGGTGGCGCGCGCTGTG
CGTGGTCATCGCGCTGACGGCGCGGCCAACTCGCTGCTGATCGCGCTCATCTGCACTCAGCCCGCGCTG
CGCAACACGTCCAACCTTCTTCTGGTGTGCTCTTACGCTGACCTGATGGTGGGGCTGGTGGTGTGCTG
CGCCGGCCATGCTGAACGCGCTGTACGGGCGCTGGGTGCTGGCGCGCGGCTCTGCTGCTCTGGACCGC
CTTCGACGTGATGTGCTGACGCGCTCCATCTCAACCTCTGCTCATCAGCCTGGACCGCTACCTGCTC
ATCTCTCGCCGCTGCGCTACAAAGCTGCGCATGACGCCCTGCGTGGCTTGGCCCTAGTCTGGGGCGCT
GGAGCTTCGCGCTCTCGCTCTCTTCTGCTGCTGCTGGGCTGGCACGAGCTGGGCCACGCACGGCC
ACCCGTCCTTGCCAGTGCGCTGCTGGCCAGCCTGCCCTTTGTCTTGTGGCGTGGGCGCTCACCTTC
TTCCTGCCCTCGGGTGCCATATGCTTACCTACTGACGATCCTGTAGTGGCCGAAAGCAGGCCGTGC
AGGTGGCTTCCCTCACCAACCGCATGGCCAGTCAGGCTCGGAGACGCTGCAGGTGCCAGGACCCACG
CCCAGGGGTGGAGTCTGCTGACAGCAGGCGCTAGCCACGAAGCACAGCAGGAAGGCCCTGAAGGCCAGC
CTGACGCTGGGCATCTGCTGGGCATGTTCTTTGTGACCTGGTTGCCCTTCTTTGTGGCCAACATAGTCC
AGGCCGTGTGCGACTGCATCTCCCCAGGCTCTTCGATGTCTCACATGGCTGGGTACTGTAACAGCAC
CATGAACCCCATCATCTACCACTCTTTCATGCGGGACTTCAAGCGGGCGCTGGGCAGGTTCTTGCCATGT
CCACGCTGTCCCCGGGAGCGCCAGGCGAGCTGGCCTCGCCATCACTGCGCACCTCTCACAGCGGCCCC
GGCCCCGGCCTTAGCTACAGCAGGTGCTGCGCTGCCCTGCCCGCGGACTCAGATTGCGACTCAGACGC
AGGCTCAGGCGGCTCTCGGGCTGCGGCTCACGGCCAGCTGCTGCTTCTGGCGAGGCCACCCAGGAC
CCCCGCTGCCACACAGGCGCGCTGCCCGCTCAATTTCTTCAACATCGACCCCGCGGAGCCGAGCTGC
GGCCGCTCCACTTGACATCCCCACGAAGTACCCGGGCTTGGGGCTGGCCAATGGGGAGCTGGATTGAG
CAGAACCCAGACCTGAGTCTTGGGCCAGCTCTTGGCTAAGACCAGGAGGCTGCAAGTCTCTAGAAGC
CCTCTGAGCTCCAGAGGGGTGCGCAGAGCTGACCCCTGCTGCCATCTCAGGCCCCCTTACCTGCAGGGA
TCATAGCTGACTCAGATATCGTGTCTGAAGGATGCTCCACTGTTGAGTGAACCTTGTGTGTCAGAGGA
TGGGCTGGAGGACTCTGGATGTTGGGGGAGAAGGACCTCTTGGTTGAGGTTAGGATGAAAACAATCATGAC
CTTTGCCATTCTGTGAGGCTGGACGGGAGGGAATGCCCCACCTGCAGGCATGGATTAAATGCTGGGCTG
AACCCCTTGCTACTCACAGTGTAGTCCATGGACAATCGGCATTGCCGTACCTTTGGGAGTTTGTGAAAA
ATGCACATCTCTGCCCTGCCAGACCTGCTGAGTCAGAACTGCATGTTACCAAGATCCAGGTGAATCA
TGTGCCATTACAGTTTGAGATGTGCTGCTTAGATCATCTTTAACCTCAGAAATGATTTGCTGGATGGT
TTTTGGACCTGTGCTCTCCCCCTCCCTGGTATATATGTGGCAGCAGCTGCACCTGGGAGGCAGGCAGGCA
TGCACTGTGGGCTCTGCTCTACCACTATGAGCTCTGGGGCTGACACGAGTTATTTAACCTCTCCGAGC
CTCGGTTATCCCATGTGTAAGGTAGAGAAATGATGCCATCTTTCAGGTTGTCTTGAGAATTAAGACAAT
GTGTGCCCAGCACCCAGTACACGGTCAGTTAATTGGTACGTTCTGTTGTACGACCCCGGCTATCCAGC
CCCCTGGCCTCTCCGGCTGTGTGTAGGAAGGGCTCTTTGCTCCCGTTGTTCTTTCCATTGCTGCCCTCCC
CCTCTTCAGCCCTGGCCTAGCCTCCCAAAGCTGACTCTGGTTCCCAACTCCCTGTTCTGGCTCCTGGG
TGGGGACCCCATCTCTCAGGACCCCTCCAGCTCCCAAGCTGCTGCCCTTCTTGGGGGCAAAAGG
GGCAGGTGGCAGTTCTTTTTAGCCTCAGAACTGGTTTTCTCAATCCTGGGGGGTCTTGACCTAGA
AGGGAACAATGATGGGGATAAACCCAGCCCTTGCCACCTGCCCTTCCCTGGGGTCAGTGAG
AGAAATGGGAATGGTAGCTACTTGGGTGAGCAGAGTAGAGTCAAAGAGCTGTTCTGGTGTGAGGTGGG
CCCACGAGGCAGCAGGTGGACTCTGGCACAGGGGCTTGGTTTTCTGGGGGAGGGGGTGGGGAACCTCT
TGGTGCAGCTTTACCTGCCATAGGTCCCTTTTCAGCCCTGCCCTCCCCAAGTTCCATCAACACAACTC

CCAGGGGGTCCTCCAATGCCTGGCCTGGCCCTCTCCTTGGTGCTGATGAGACACAACCTCTGGCCCCGGCGG
CTGGCCTCTGAGGGGCCATGGTGCTTGCGGGGCTTCCCCTATCCCCCAGGTCTGCCCAAGGGGACTCTCA
ATAAACTCTAGCTGAAGGCA

Şekil 5.1: Homo sapiens 5-hydroxytryptamine receptor 6 (HTR6), mRNA

5.2 EK B:

NCBI Referans Dizisi: NM_058694.4

GenBank Grafikleri

```
>NM_058694.4 Caenorhabditis elegans Taşıyıcı (mod-5), kısmi mRNA
ATGCTGCGTTGGCATTCCGTCGCGAGGAAACAGCACCAGCAGCTGCAAGCTGAACTCTCCAGCGGTGCAG
CTAGCATGCTGTCCGCGCCAGAATCTCGGCGTGTGAGCCGATCGATGAGTGTTAAAGCACCGACAGCATC
AGAATACATGCCATTATCAGTTGCCGATAAGCCCCCTAACACTAACCGTATCAACTTCACACAGTATTGAT
CCAAATGAGCCAATCGCTGCTCTCGGTGGTCTCACACCGACAAAAGAAGGCCGAGTTGCCGCACTGCGAA
GACGGAGTTCAATGGTTCGTGATAAATGGGCAACTAAAATGGAATTCCTGTTGGCCGTCGTTGGATATGC
AGTTGATTTGGGTAAATATATGGCGATTCCCATCAGTATGCTACAAACACGGTGGCGGTGCTTTTCTTATT
CCATATTTCAATTATGTTAATGATCGGAGGACTTCCCATGTTCTATATGGAACCTGTACTCGGACAATTC
ATCGGTGAGGATGTGTTAGTATATGGAGAAAGGTGTGCCGTTGTTTCGAGGAATCGGTTACGGTATCTG
CTGTATTTGCACGTTTATAGCCATTTTCTATAATGCGATCATCGCTCAAGCCGTCATTTTGTCTATTGTT
TCACTTTCAAAAATTTGGGATTCCGAAGTCCGTTGGCGTCATGTGGCAATCCGTGGAATACACCGAGAT
GCTCAGATGACCTCAACGTGACAATATCTAGAAATGGGACACCAATTGACCACTCCGTCAGAGGAATATTA
TTTATACAAAGTCCTTGAAGTTCAAAATCAACAGGATTCGATGATCTTGGAGGTGTAAAAAACTTCAATG
GCAGTGTGCTTACTCGCTGATTTATAATGGTTTACTTTGCTCTTTGGAAGGGTCCACAGTCGTCGGAA
AAATGTTTGGGTGACTGCAACAGCTCCATATATTTCTAAGTATCTTCTTATACGTGGACTTCTTCT
TCTGAGAGCAAGAAATGGTCTCTATTATATGTGACACCGGATTCGAGAACTCAAGGATCCTGCAGTA
TGGTCGGCTGCTGTACACAGATTTCTTCTCACTTGGACCAGGATTCGGGGTGTGCTCGCGCTGAGCA
GTTACAATGATTTTAAACAATACTGCTATCGTGACGCCGTCACCTACCTCCATCATTAACGTGCCACGTC
ATTCTTTTCCGATGTGTTGATTTCTCTACACTTGGCTATATGTCTTTCTCACCAATAAACCGATTAAT
GAGGTAGTTGGAGAACACGACGCTCTCTAATCTTCATCGTCTACCCCCAAGCTCTCGCAACATGGATT
ACAGTTGTTTCTGGTCTTTCATCTTTTCTGTCATGCTAATCACTCTTGGAAATCGACTCCACTTTTGTCTGG
AATCGAAGCATTTATCACGGGATTCGTGATGAGTCGAGGTTTTTGTGCAAAAATCGAAAATGGTTCGTG
CTGGTCATTTGCATCATTTTATTAATCTCTCAGCTTTCCCGCTATCAGCTATGGTGGTCAATTCGTGATCC
CGTTCCTGGATGAATATGGAGTTTCTCTATCAGTTCTGTTTCAATGTGACCTGCGAAATGATTGCAGCTG
CTGGTTTTACGGTGTGATCAGTTCTCAAAAGATATTCGTGCTATGCTGGGATTCATCTCGGAATTTAT
TGGAGAGTCTGCTGGACGTGTTCTCCGGTTTTTAAGTGTGATATTCATTATGACTGTCTACAATAGTT
CGTTCAAGCCAATTCAAATGGCTAGCTACACTTTCCCTGGTGGAGTGTTATTTGGGTTGGTTCTTGAG
ACTTCTCTCAGTCTCGCAATTCCTGTCTTCGCAATAATCTACCTGCTCAGCGGTACCGGCACACTTTAC
GAACGCTTCCGATGGGCAATAACTCCTCAACAACGCCGAAATTCGGCGACTTCTCTCGCCGCTGATCCCA
CACAAATTATCGATAGTTCTCTTTTAGATCCAATTCATACACTTACTCCAGTTTAGATAATTCTTGGTGT
ACTGTTGGAAGTCAACGATCGATAGCCGTCACAGAAAAAAGCGGAGCGTAATTCGCAACCTTGCGG
CACGGTTTTTCCACCTATTTTGACGCCCGTTTTATTCTCTTTTTTTTTTAAATAAAAACTAAATTGGATAG
TCTTTTTATTAATAAAAAAAGAGAATTCAAATCGAAATTTATAGAAAAATCAGCAAAACCGTGCCGCA
GGATTGCAAAATTACGCTCTGCCCTCTTTTACGAATCGATCTTTTAATTTCAACAGTTATTATCGATTTA
TTGATTTTCTTCCACTTTTCAAATTTTAAAAATTTTCAATTCTCGAACTCGAATTATTTCTGGAG
TAGCGTTTTATTTTCCGATCTCTTTAACCATCCACGCGGTGCCAATTCCTATTTAATCTCATAACTCA
CAAGCTTTCGTTTTCTGAAATTTGTAAATAATCAATTAAAAAAGAATTTTATTGCAGATATAAACA
AAAATATTTAATACTTAA
```

Şekil 5.2: *Caenorhabditis elegans* Taşıyıcı (mod-5), kısmi mRNA

KAYNAKLAR

- Alberts, B. J.** (2002). The janus face of serotonin: Regenerative promoter and chronic liver disease aggravator. s. 4072-9.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26813/> adresinden alındı
- Aydın, U.** (2021). Bağırsak-Beyin Eksenine Biyokimyasal Bakış. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi, s. 137-143.
- Balakrishna, P.** (2021, Ocak 28). Serotonin Pathway in Cancer. Int J Mol Sci., s. 1268.
- Bargmann, C.** (1998). Neurobiology of the *Caenorhabditis elegans* genome. . Science,, s. 2028–2033.
- Barmanbay, B. A.** (2022, Mart 3). The Role of Serotonin in Breast Cancer. Journal of Experimental and Basic Medical Sciences,, s. 221-226.
- Bousman, C.** (2023). Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for CYP2D6, CYP2C19, CYP2B6, SLC6A4, and HTR2A Genotypes and Serotonin Reuptake Inhibitor Antidepressants. Clin Pharmacol Ther.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37032427/> adresinden alındı
- Bozkurt, A.** (2023, Temmuz). Hipoksik Koşullarda Farklı Hücre Hatlarında ve *C. elegans'* da Karbonik Anhidraz VII, Karbonik Anhidraz VII Benzeri Genlerin Regülasyonu. . Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Fakültesi Yüksek Lisans Tezi.
- Brenner, S.** (1974). The genetics of *Caenorhabditis elegans*. Genetics, s. 71–94.
- Caragher, S.** (2018, Ağustos). Monoamines in glioblastoma: complex biology with therapeutic potential. Neuro-Oncology,, s. 1014–1025.
<https://doi.org/10.1093/neuonc/nox210> adresinden alındı
- Carvalho-Dias, E. M.** (2017). Serotonin regulates prostate growth through androgen receptor modulation. Sci Rep 7, s. 15428. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-15832-5> adresinden alındı
- Charles Sturt University.** (2025). Receptors and ligands. Charles Sturt University,,: <https://opentext.csu.edu.au/secretlivesofcells/chapter/receptors-and-ligands/> adresinden alındı
- Chase, D. L.** (2007). Biogenic amine neurotransmitters in *C. elegans*. WormBook,, s. 1–15.
- Curran, K.** (2012, Ağustos 24). Serotonin circuits and anxiety: what can invertebrates teach us? Invert Neurosci., s. 81-92.
- Çınar, V.** (2020, Ağustos 1). Serotonin Reseptörlerinin Meme Kanseri Hücrelerinde Apoptoz Sinyal Yolağı Üzerine Rollerinin Araştırılması. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi., s. 1.
- Fire, A. X.** (1998). Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. Nature,, s. 806–811.
- Jafari, G. X.** (2011). Regulation of extrasynaptic serotonin by serotonin reuptake transporter MOD-5 in *Caenorhabditis elegans*. . Journal of Neuroscience,, s. 16168–16180.
- Kaletta, T.** (2006). Finding function in novel targets: *C. elegans* as a model organism. . Nature Reviews Drug Discovery,, s. 387–399.
- Kannen, V.,** (2020, Ağustos). The Dual Role of Serotonin in Colorectal Cancer. . Trends in Endocrinology & Metabolism,, s. 611- 625.
- Karmakar, S. L.** (2021). Role of serotonin receptor signaling in cancer cells and anti-tumor immunity. Theranostics., s. 5296-5312. doi:10.7150/thno.55986
- Kitto, E.** (2025, mayıs). The hypoxic response extends lifespan through a bioaminergic and peptidergic neural circuit. bioRxiv [Preprint.]. doi:10.1101/2025.05.04.652087
- Miller School Of Medicine.** (2025). <https://news.med.miami.edu/new-miller-school-study-shows-pancreatic-beta-cells-communicate-with-the-brain/> adresinden alındı

KAYNAKLAR(devam)

- Özdoğan, M.** (2025). Reseptör nedir? Kanserleşmede ve kanser tedavilerinde rolü nedir? Prof. Dr. Mustafa Özdoğan Tıbbi Onkoloji Uzmanı: <https://www.drozdogan.com/reseptor-nedir-kanserlesmede-ve-kanser-tedavilerinde-rolu-nedir/?v=1.0.11> adresinden alındı
- Parkı, J. J.** (2021, Aralık 16). Serotonergic Regulation of Hepatic Energy Metabolism. Diabetes, Obesity and Metabolism. <https://doi.org/10.3803/EnM.2021.1331> adresinden alındı
- Ranganathan, R. S.** (2001). Mutations in the *Caenorhabditis elegans* serotonin reuptake transporter MOD-5. *Molecular Biology of the Cell*, s. 386–400.
- Sia, D. T.** (2013). Intrahepatic cholangiocarcinoma: pathogenesis and rationale for molecular therapies. *Oncogene*, s. 4861–4870. <https://doi.org/10.1038/onc.2012.617> adresinden alındı
- Sternberg, P. W.** (2025.). WORMBASE. <https://wormbase.org/#012-34-5> adresinden alındı
- Sze, J. Y.** (2000). Food and metabolic signalling defects in a *Caenorhabditis elegans* serotonin-synthesis mutant. *Nature*, s. 560–564.
- Walther, D.** (2003). A unique central tryptophan hydroxylase isoform. *Biochemical pharmacology*, s. 1673–1680. [https://doi.org/10.1016/s0006-2952\(03\)00556-2](https://doi.org/10.1016/s0006-2952(03)00556-2) adresinden alındı
- Watanabe, H. R.** (2017, Temmuz 26). Energy Homeostasis by the Peripheral Serotonergic System. In *Serotonin A Chemical Messenger Between All Types of Living Cells*. InTech. <https://doi.org/10.5772/intechopen.68831> adresinden alındı
- WebQC.Org.** (2026, Ocak 7). Serotoninin 3 Boyutlu Moleküler Yapısı. WebQC.Org: <https://www.webqc.org/3d-molecular-structure-of-Serotonin.html> adresinden alındı.
- Yabut, J.** (2019, Ağustos 1). Emerging Roles for Serotonin in Regulating Metabolism: New Implications for an Ancient Molecule. *Endocr Rev.*, s. 40.
- Ye, D. X.** (2021, Mayıs 18). Targeting SERT promotes tryptophan metabolism: mechanisms and implications in colon cancer treatment. *J Exp Clin Cancer Res.*, s. 173.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı: Gülsüm SARITAŞ

Doğum tarihi ve yeri: 01/06/1998- Büyükorhan- Bursa

e-posta: 1963.1998glsm@gmail.com

Öğrenim Bilgileri

Derece	Okul/Program	Yıl
Y. Lisans	Balıkesir Üniversitesi/ Moleküler Biyoloji ve Genetik	2026
Lisans	Balıkesir Üniversitesi/ Moleküler Biyoloji ve Genetik	2021
Lise	Mihraplı Abdülkadir Can Anadolu İmam-Hatip Lisesi	2017

Yayın Listesi

Gülsüm Güleç, Canberk Toprak, Sümeyye Aydoğan Türkoğlu, Comparison of Serotonin Related Human SLC6A4 and Caenorhabditis elegans MOD-5 Genes with Bioinformatics Tools, 9th International Congress of the Molecular Biology Association of Turkey, 12-14 September 2024 İzmir Institute of Technology, İzmir, Türkiye. Poster Bildiri [**Tezden türetilmiştir**].