

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ

Қ.И.Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық технологиялық зерттеу университеті

Қ.Тұрысов атындағы Геология және мұнай-газ ісі институты

Химиялық және биохимиялық инженерия кафедрасы

**ҚОРҒАУҒА ЖІБЕРІЛДІ**

Кафедра меңгерушісі

«ХиБИ» кафедрасы

PhD доктор

Амитова А.А.

«07» маусым 2024ж.



Дипломдық жобаның  
**ДИПЛОМДЫҚ ЖОБА**

Тақырыбы: «Биоинформатикалық құралдарды пайдалана отырып ми қатерлі ісігіндегі негізгі гендердің экспрессиясын бағалау»

Мамандығы 6B05101–«Химиялық және биохимиялық инженерия»


Орындаған

Фахардинова Д.Ш.

Жылгелді Д.А.

Рецензент

Биология ғылымдарының  
кандидаты (PhD)

 Асрандина С.Ш.

«06» маусым 2024 ж.

Ғылыми жетекші

Жаратылыстану ғылымдары

магистры, аға оқытушы

 Ботбаев Д.М.

«06» маусым 2024ж.

Алматы 2024

Қ.И.Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық техникалық университеті

Қ.Тұрысов атындағы Геология және мұнай-газ ісі институты

Химиялық және биохимиялық инженерия кафедрасы

6В05101–«Химиялық және биохимиялық инженерия»

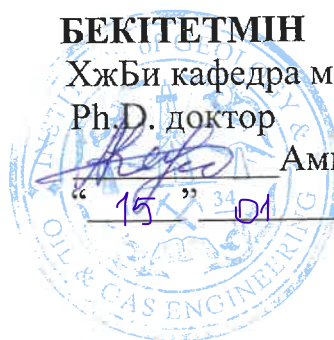
**БЕКІТЕТМІН**

ХжБи кафедра меңгерушісі

Ph.D. доктор

Амитова А.А

“ 15 ” “ 04 ” 2024ж.



**Дипломдық жұмыс орындауға  
ТАПСЫРМА**

Білім алушы: Фахардинова Д.Ш., Жылгелді Д.А.

Тақырыбы: «Биоинформатикалық құралдарды пайдалана отырып ми қатерлі ісігіндегі негізгі гендердің экспрессиясын бағалау».

Университет Ректорының 2023 жылғы “04” желтоқсан № 548-н/ ө бұйрығымен бекітілген

Аяқталған жұмысты тапсыру мерзімі 2024 жылғы “ 10 ” маусым

Дипломдық жұмыстың бастапқы берілістері: *диплом алдындағы тақырып бойынша әдебиеттерге шолу нәтижелері, теориялық мәліметтер жиыны*  
Дипломдық жұмыста қарастырылатын мәселелер тізімі:

- a) кіріспе;
- b) негізгі бөлім;
- c) әдебиетке шолу;
- d) материалдар мен зерттеу әдістері;
- e) нәтижелер мен талқылаулар;
- f) қорытынды;




Ұсынылатын әдебиеттер тізімі: 32 атау.

Дипломдық жобаны даярлау

КЕСТЕСІ

Бөлім атаулары, дайындалатын сұрақтардың тізімі	Ғылыми жетекшіге, кеңесшілерге өткізу мерзімі	Ескерту
Әдеби шолу	24.11.2023ж	
Әдістер мен жұмысты орындау барысы	22.01.2024-20.03.2024ж	
Алынған нәтижелерді талдау	25.03.2024-08.04.2024ж	
Графикалық бөлім	10.04.2024ж	

Аяқталған дипломдық жобаның және оларға қатысты бөлімдерінің кеңесшілері мен қалып бақылаушының қолтаңбалары

Бөлімдер атауы	Ғылыми жетекші, кеңесшілер (аты-жөні, тегі, ғылыми дәрежесі, атағы)	Қолтаңба қойылған мерзім	Қолы
Әдістер мен жұмысты орындау барысы	Аға оқытушы, магистр Ботбаев Д.М		
Алынған нәтижелерді талдау	Аға оқытушы, магистр Ботбаев Д.М		
Қалып бақылаушы	Аға оқытушы, магистр Ботбаев Д.М		

Ғылыми жетекші





Ботбаев Д.М.

Тапсырманы орындауға алған білім алушы



Фахардинова Д.Ш.

Жылгелді Д.А.

Күні

«10» маусым 2023 ж.

«ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ ҒЫЛЫМ ЖӘНЕ ЖОҒАРЫ БІЛІМ  
МИНИСТІРЛІГІ

Қ.И. Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық технологиялық зерттеу университеті  
Қ. Тұрысов атындағы Геология және мұнай-газ ісі институты  
Химиялық және биохимиялық инженерия кафедрасы

Фахардинова Диана Шамилқызы  
Жылгелді Диас Ардашерұлы

Биоинформатикалық құралдарды пайдалана отырып ми қатерлі ісігіндегі  
негізгі гендердің экспрессиясын бағалау

**Дипломдық жоба**

6B05101–«Химиялық және биохимиялық инженерия» мамандығы

Алматы 2024

## АҢДАТПА

Бұл дипломдық жобаның тақырыбы «биоинформатика құралдарын пайдалана отырып, ми ісігіндегі негізгі гендердің экспрессиясын бағалау». Жұмыс кіріспеден, абзацтары бар үш бөлікке бөлінген негізгі бөлімнен, қорытындыдан және пайдаланылған әдебиеттер тізімінен тұрады. Жоба мәтіні 1 кесте және 14 суреттен тұрады. 32 ғылыми дереккөз зерттелді.

Әдебиеттерге шолу ми ісігіне, әсіресе глиобластомаға қатысты қазіргі тұжырымдамалар мен ақпаратты көрсетеді. Ми ісігінің дамуына қатысатын негізгі гендер мен молекулалық жолдар қарастырылады. Бөлімдер негізгі гендердің экспрессиясын талдау нәтижелерін ұсынады. Мәліметтер базасы негізінде зерттеу талқылауы жазылады. Қорытындыда зерттеудің негізгі қорытындылары көрсетілген.

## АННОТАЦИЯ

Тема данного дипломного проекта – «оценка экспрессии ключевых генов при раке мозга с использованием биоинформатических инструментов». Работа включает введение, основную часть, разделенную на три части с параграфами, заключение и список использованной литературы. В тексте проекта представлено 1 таблица и 14 рисунков. Было изучено 32 научных источника.

Обзор литературы отражает современные концепции и информацию, связанную с раком мозга, особенно с глиобластомой. Рассматриваются ключевые гены и молекулярные пути, участвующие в развитии рака мозга. В разделах представлены результаты анализа экспрессии основных генов. На основе баз данных написано исследовательское обсуждение. В заключении изложены основные выводы, сделанные по результатам исследования.

## **ABSTRACT**

The topic of this thesis project is "Evaluation of Key Gene Expression in Brain Cancer Using Bioinformatics Tools." The thesis consists of an introduction, the main body divided into three parts with paragraphs, a conclusion, and a list of references. The text includes 1 table and 14 figures. A total of 32 scientific sources were reviewed.

The literature review presents contemporary concepts and information related to brain cancer, particularly glioblastoma. It examines the key genes and molecular pathways involved in the development of brain cancer. The sections present the results of the analysis of key gene expression. A research discussion is based on database findings. The conclusion summarizes the main findings of the conducted research.

## МАЗМҰНЫ

	Кіріспе	6
	Негізгі бөлім	7
1	Әдебиетке шолу	7
1.1	Ми ісігінің молекулалық механизмдерінің жалпы сипаттамасы	8
1.1.1	Ми ісігіне байланысты биомаркерлер және генетикалық өзгерістер	8
1.1.2	Айналымдағы микроРНК	9
1.1.3	О-6-метилгуанин-ДНК метилтрансфераза (MGMT) мутациялары	10
1.1.4	Эпидермиялық өсу факторының рецепторы (EGFR)	11
1.1.5	Изоцитратдегидрогеназа	11
1.1.6	Ісік ақуызы 39 (TP39)	12
1.1.7	Ісік ақуызы 53 (TP53)	12
1.2	Ми ісігінің дамуына әкелетін эпигенетикалық өзгерістер	12
1.3	Ми ісігінің патогенезіндегі ген экспрессиясының рөлі	13
1.4	Ми ісігінің емге төзімділігінің жалпы механизмдері	15
1.4.1	Гематоэнцефалдық барьер	15
1.4.2	Гипермутациялар	16
1.4.3	Гипоксия	17
1.5	Ми ісігі сұйық биопсиясының соңғы жетістіктері	17
2	Материалдар мен әдістер	19
2.1	RNA-Seq деректерін талдау құралдары	19
2.2	Микрочип талдау құралдары	21
2.3	Жолдар мен желілерді талдау	22
2.4	Зерттеу методикасы	23
3	Зерттеу нәтижелері	26
3.1	Үлгілерді эксперименттік топтарға бөлу	26
3.2	Дифференциалды экспрессиялық талдау (DEG) және BCL6 ақуызының ми ісігіндегі рөлі мен оның негізгі онкогендердің экспрессиясына әсері	26
3.3	Human Protein Atlas дерекқоры арқылы нәтижелерді тексеру	31
	Қорытынды	
	Әдебиеттер тізімі	



## КІРІСПЕ

Ми ісігін диагностикалау және емдеу өте қиын, өмір сүру деңгейі төмен. Ми ісігі өзінің күрделілігі мен салыстырмалы сиректігіне байланысты қазіргі заманғы медицинаның негізгі мәселелерінің бірі болып қала береді. Онкология саласындағы елеулі жетістіктерге қарамастан, зерттеушілер мен дәрігерлер бұл ауруды диагностикалау, емдеу және алдын алудың жаңа әдістерін жасауға әлі күнге дейін ұмтылуда. Осы тұрғыда ми ісігі дамуының молекулалық механизмдерін зерттеу осы аурумен күресудің тиімді стратегияларын табуда шешуші рөл атқарады.

Ми ісігі гендік функцияның немесе экспрессияның өзгеруінен туындайды, ол жыныс жасушаларында болатын тұқым қуалайтын генетикалық өзгерістерден немесе соматикалық жасушаларда пайда болатын генетикалық мутациялардан туындауы мүмкін. Бұл гендер әдетте жасушаның бөліну жылдамдығын, оның басқа гендердегі ақауларды жөндеу қабілетін және түзетілмейтін зақымдалған жағдайда өзін-өзі жою қабілетін реттейді.

Бұл жұмыста биоинформатиканың озық әдістерін қолдана отырып, біз ми ісігінің пайда болуына және дамуына жауапты негізгі гендерді зерттеп, олардың экспрессиясын бағаладық. Бұл гендер жасушалардың бақыланбайтын бөлінуін ынталандыратын онкогендерді, әдетте ісік өсуін басатын ісік супрессорларын және әртүрлі сигналдық жолдарды реттеуге байланысты гендерді қамтиды. EGFR, PDGFRA және IDH1 сияқты гендердің мутациялары мида жиі кездеседі және ми ісігінің патогенезінде шешуші рөл атқарады. Ми ісігіндегі гендердің экспрессиясын бағалау емдеу мен диагностиканың жаңа жолдарын ашады. Ісіктегі молекулалық процестерді талдау арқылы ерте диагностикалау және оңтайлы терапияны таңдау үшін биомаркерлерді анықтауға болады.

**Жобаның өзектілігі:** Бұл жұмыстың өзектілігі жаңа терапевтік мақсаттарды іздеу және глиобластоманы емдеудің тиімдірек стратегияларын әзірлеу қажеттілігіне байланысты. Нәтижелер ісік өсуінің негізгі реттеушілерін басу және ми ісігінің осы агрессивті түрімен ауыратын науқастарды емдеу нәтижелерін жақсартуға бағытталған инновациялық терапевтік тәсілдерді одан әрі зерттеу және дамыту үшін негіз бола алады.

**Жобаның мақсаты:** : Биоинформатикалық құралдарды пайдалана отырып ми қатерлі ісігіндегі негізгі гендердің экспрессиясын бағалау.

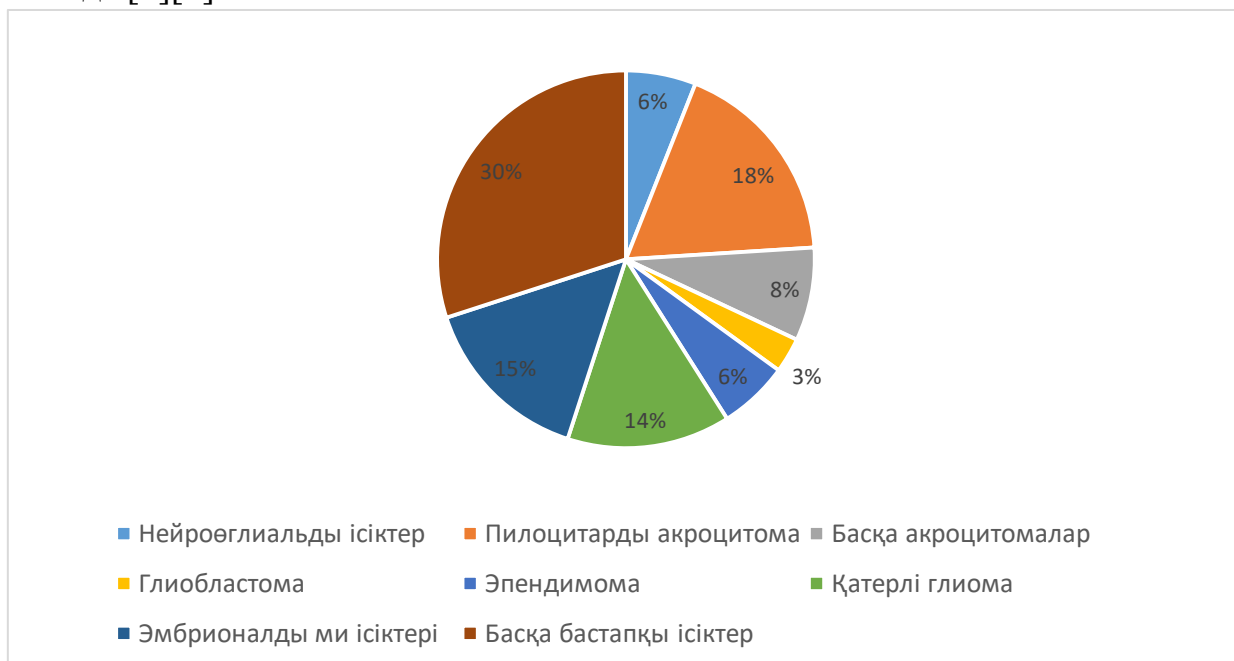
**Жобаның міндеттері:**

1. Белгілі гендер арқылы зерртеу жұмыстарын жүргізу.
2. Алынған нәтижелерді биоинформатикалық әдіс-құралдармен талдау.

## Негізгі бөлім

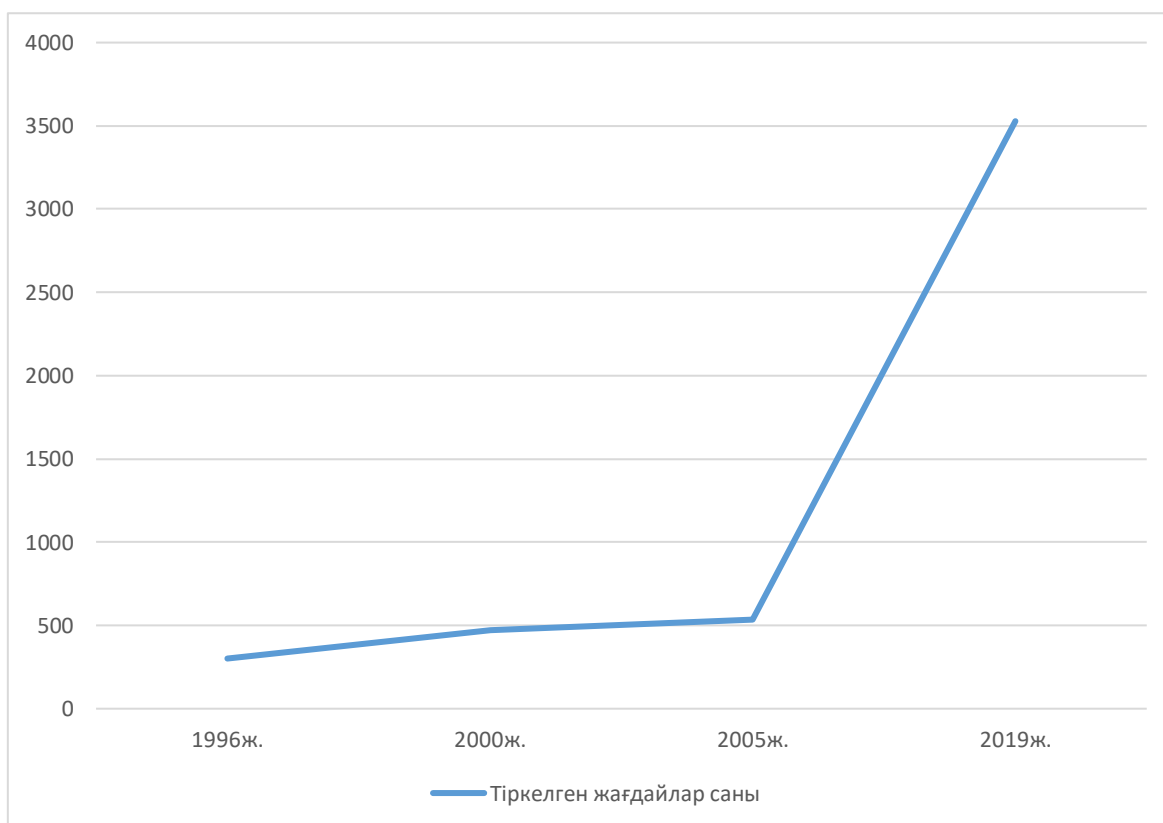
### 1.Әдебиетке шолу

Ми ісіктері барлық қатерлі ісіктердің шамамен 1,35% және қатерлі ісіктен қайтыс болғандардың 29,5% құрайды. Ең жиі кездесетін қатерлі ми ісігі - глиобластома, ол глиальды жасушалардан пайда болады, ми ісігінің барлық жағдайларының шамамен 49% құрайды. Мидың басқа қатерлі ісіктеріне орталық жүйке жүйесінің (ОЖЖ) бастапқы лимфомалары (7%), сондай-ақ эпендиоманың (3%) және менингиоманың (2%) қатерлі нұсқалары жатады[1][2].



**1-сурет** – Ми ісіктері түрлерінің кездесу жиілігі

Эпидемиологиялық мәліметтерге сәйкес, АҚШ-та жыл сайын 40 мыңға жуық пациентке бас миының бастапқы ісігі диагнозы қойылады[3]. Ресейде жыл сайын глиобластоманың 2000-2500 жағдайы тіркеледі. Жылдан жылға ауруға шалдыққандар санының тұрақты өсуіне ерекше назар аударылады. Қазақстан Республикасында 1996 жылы аурудың 301 жағдайы тіркелсе, 2000 жылы бұл сан 469-ға дейін өсті (бұл 1,56 есе өсті), 2005 жылы 537 жағдайға жетті (1,78 есе өсті). 2019 жылға стационарлық науқастардың электронды тізілімінің (МЭТР) деректері бойынша 10 мың халыққа шаққанда С71 (мидың қатерлі ісігі) диагнозы қойылған науқастардың аурушаңдық деңгейі 1,96 адамды құрады (бұл 3528 жағдайға дейін өсуіне әкелді)[4].



**2-сурет** – Ми ісігінің санының Қазақстан Республикасындағы өсу деңгейі

Өкінішке орай, емдеудегі заманауи жетістіктерге қарамастан, ми ісігі бар науқастардың өмір сүру деңгейі өте перспективалы емес. Мидың ең жиі кездесетін қатерлі ісіктері көптеген клиникалық сценарийлерде жаһандық орташа өмір сүру ұзақтығы 2 жылдан аз болады[5].

## **1.1 Ми ісігінің молекулалық механизмдерінің жалпы сипаттамасы**

### **1.1.1 Ми ісігіне байланысты биомаркерлер және генетикалық өзгерістер**

Қатерлі ісіктерді сәтті емдеу үшін оны метастаз процесі әлі басталмаған ерте кезеңдерінде диагностикалау қажет. Ісікті биоматериалдың гистологиялық зерттеуі арқылы микроскоппен анықтауға болатын кезде, тиімді емдеу үшін жиі кеш болады және кез келген ем қабылдағаннан кейін де науқастың өлім қаупі жоғары. Сондықтан ісіктерді ерте анықтауға мүмкіндік беретін биомаркерлерді табу маңызды.

Ми ісігімен байланысты негізгі маркерлерге мыналар жатады: айналымдағы ісік жасушалары, O-6 метилгуанин-ДНҚ метилтрансфераза мутациялары, эпидермиялық өсу факторының рецепторлары (EGFR), изоцитратдегидрогеназа (IDH), ісік ақуызы p39, ісік ақуызы 53.



**3-сурет** – Ең жиі кездесетін ми ісіктеріне жауапты негізгі гендер

### 1.1.2 Айналымдағы микроРНК.

Айналымдағы микроРНК қан, несеп, ми-жұлын сұйықтығы (ЖС) және сілекей сияқты әртүрлі дене сұйықтықтарында анықталуы мүмкін. Олар әртүрлі аурулардың, соның ішінде ми ісіктерінің перспективалы биомаркерлері болып саналады. Көптеген зерттеулер айналымдағы миРНК экспрессиясын ми ісігі бар науқастардың ЖС және қанында талдауға болатынын көрсетті. Кейбір миРНК-лар ЖС және қанда әртүрлі экспрессияны көрсетеді. Қанда табылған айналымдағы микроРНК диагностика, болжау және ісіктердің әртүрлі түрлерін емдеудің тиімділігін бақылау үшін пайдалы болуы мүмкін. Дегенмен, олар ми ісіктерін диагностикалау үшін тиімді емес. Керісінше, ЖС-тағы айналымдағы микроРНК профилі ми ісіктерін дәлірек және нақты анықтауды уәде етеді.[6]

МикроРНК-лар жасушадан тыс көпіршіктердің (ЭК) (экзосомалар мен микровезикулалар) немесе апоптотикалық денелердің бөлігі ретінде жасушадан бөлінуі мүмкін; жоғары тығыздықтағы липопротеидтермен (HDL) байланысуы мүмкін. Содан кейін, олардың пішініне қарамастан, микроРНК жасушадан тыс кеңістіктен биологиялық сұйықтыққа (мысалы, жалпы қан айналымына) ауысады.

Сонымен қатар, жасушадан тыс микроРНК, экзосомалық микроРНК сияқты, жасушаішілік байланыс пен жасуша сигнализациясында маңызды рөл атқарады. Соңғы екі онжылдықта жасушалық гомеостазды сақтаудағы жасушадан тыс микроРНК рөлі туралы кең дәлелдемелік база алынды.

Экзосомалар жасушааралық байланыстың жаңа түрі болып табылады. Бұл диаметрі 30-дан 100 нм-ге дейінгі эндосомалық шығу тегі шағын мембраналық көпіршіктер, олар қалыпты немесе қалыпты емес жасушалардың әртүрлі түрлерімен бөлінеді. Ісік жасушалары экзосомалар өндірісінде ерекше маңызды рөл атқарады. МикроРНҚ-дан басқа, экзосомалар ДНҚ, белоктар, басқа кодталмаған РНҚ, трансляция факторлары, метаболикалық ферменттер және т.б. сияқты молекулалардың алуан жиынтығын қамтиды.

Экзосомалық микроРНҚ-лардың МРВТ ісігінің пайда болуына, соның ішінде терапияға төзімділікке белсенді қатысатыны туралы деректер бар. Беткі ақуыз маркерлерінің және адгезия молекулаларының болуы экзосомалардың сәйкес рецепторлары бар жасушалармен (соның ішінде ісік жасушаларымен) байланысуына және микропиноцитоз немесе эндоцитоз арқылы осы жасушаларға тасымалдануына мүмкіндік береді. Мұның бәрі экзосомалар арқылы тасымалданатын микроРНҚ реципиент жасушаларына еніп, олардың мақсатты гендерінің экспрессиясын реттей алатынын көрсетеді[7].

### **1.1.3 О-6-метилгуанин-ДНҚ метилтрансфераза (MGMT) мутациялары.**

О-6-метилгуанин ДНҚ метилтрансферазасын (MGMT) кодтайтын ген 10q26 хромосомада орналасқан. ДНҚ негізі жұптарын метилдеу арқылы, темозоломид сияқты химиотерапиялық препараттарды алкилдеу ісік жасушаларында ДНҚ репликациясын бұзады. Белсенді MGMT ісікте қалыпты ДНҚ репликациясының пайда болуына мүмкіндік беретін темозоломидтің әсерін жояды. О-6-метилгуанин-ДНҚ метилтрансфераза ДНҚ алкилденуін кері қайтару және гуанин алкил тобын жою арқылы ДНҚ репарациясына ықпал етеді, осылайша апоптоздың алдын алады. MGMT жақында ісік диагностикасы үшін биомаркер ретінде танылды. MGMT генінің метилденуі глиобластоманың дамуына ықпал етеді және клиникалық тәжірибеге ең үлкен әсер ететін генетикалық саусақ ізі болып табылады. О-6-метилгуанин ДНҚ метилтрансферазасының (MGMT) болуы қазіргі күтім стандарты, темозоломид алкилирлеуші препаратымен адьювантты химиотерапияның тиімдірек екенін көрсетеді.

### **1.1.4 Эпидермиялық өсу факторының рецепторы (EGFR).**

Сигнал беру жолдары мен физиологиялық жауаптардың көпшілігі, соның ішінде миграция, пролиферация, өмір сүру және ісік дамуы эпидермиялық өсу факторының рецепторымен (EGFR) белсендіріледі. EGF, TGF-, гепаринді байланыстыратын эпидермиялық өсу факторына ұқсас фактор (HB-EGF), амфирегулин (AR), бетацеллулин (BTC), нейрогулиндер (NRGs), сондай-ақ нейрогулин ретінде белгілі; нейрондық дифференциация

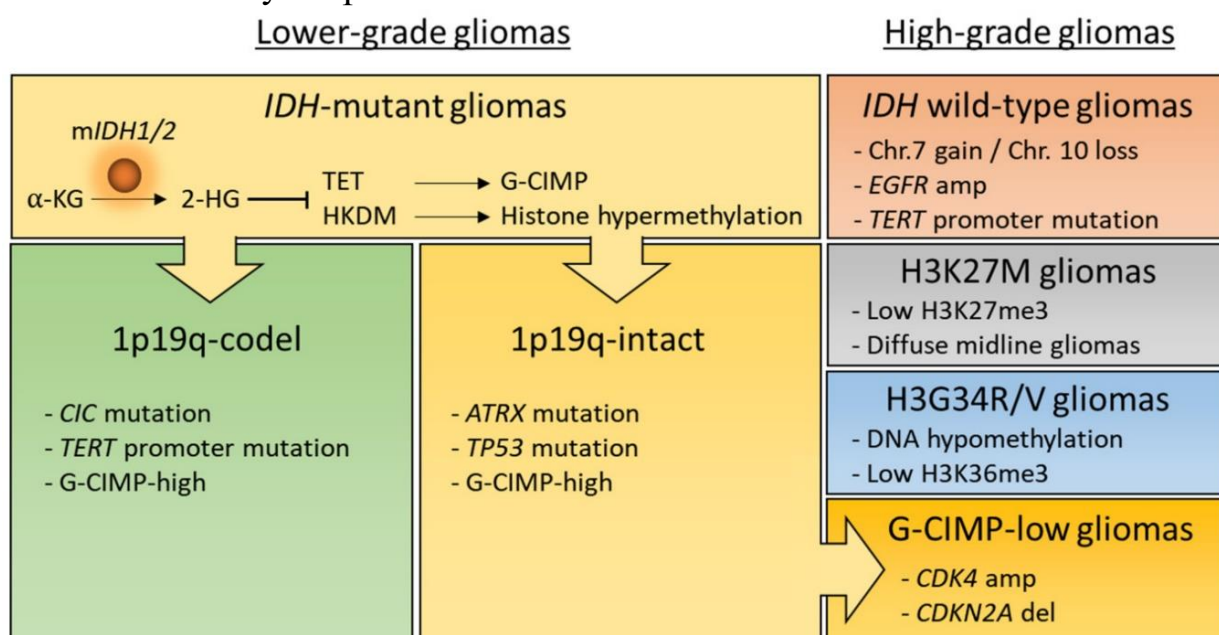
факторлары; глиальды өсу факторлары; ацетилхолиндік рецепторлардың белсенділігін индукциялау; эпирегулин - барлығы EGF суперфамилиясының (EPR) мүшелері

### 1.1.5 Изоцитратдегидрогеназа

Изоцитратдегидрогеназа (IDH) - 2-хромосомадағы гендерді кодтайтын ақуыздық фермент. Кребс цикліндегі IDH негізгі қызметі тотығу декарбоксилденуін катализдеу болып табылады. IDH екі класқа бөлінеді (IDH 1 және IDH 2). Глиобластомадағы изоцитратдегидрогеназа 1 (IDH-1) мутациясы адам глиобластома үлгілерінің жан-жақты геномдық талдауы арқылы байқалды. IDH-1 ақуызы цитоплазманы тотығу зақымдануынан қорғайды. R132-де гетерозиготалы нүктелік мутация глиобластома үлгілерінің 12%-да анықталды.

Төменгі дәрежелі ісіктерден дамитын глиобластомаларда IDH-1 мутациясының (83%) едәуір жоғары таралуы болды. II/III класс астроцитомаларында, олигоастроцитомаларда және олигодендроглиомаларда изоцитратдегидрогеназа бар, бұл біріншілік глиобластомаларды екіншіліктен ажыратуға мүмкіндік береді.

Ересектердің диффузды глиомалары негізінен екі топшаға бөлінеді: IDH-мутантты және жабайы типті глиомалар. Төменгі дәрежелі глиомалар немесе IDH-мутантты глиомалар одан әрі екі кіші түрге жіктеледі: 1p19q-кодталған немесе интакт глиомалар. Маңыздысы, қатерлі рецидив кезінде IDH-мутантты және 1p19q-интактті глиомаларда ДНҚ метилденуінің жоғалуы жоғары дәрежелі (G-CIMP-low) глиомаларға прогрессиямен байланысты болуы мүмкін.



4-сурет - Ересек және балалардағы глиомалардың негізгі субтиптері.[23]

### **1.1.6 Ісік ақуызы 39 (TP39)**

Ісік ақуызы 39А (TP39А) ТМЕМ39А және ТМЕМ39В тұратын трансмембраналық ақуыз 39 (ТМЕМ39) отбасына жатады. ТМЕМ39 екі изоформасы балама сплайсинг арқылы жасалады. ТМЕМ39А кодтайтын ген ми ісіктеріне бейімділік тудыруы мүмкін. Трансмембраналық белоктар плазмалық мембрананы бір жағынан екінші жағынан кесіп өтеді. Материалдардың биологиялық мембраналар арқылы қозғалысы бірнеше трансмембраналық ақуыздармен реттеледі. Көп склерозға бейімділік ТМЕМ39А кодтайтын генмен байланысты болуы мүмкін. ТМЕМ39А жүйелі қызыл жегімен де байланысты.

### **1.1.7 Ісік ақуызы 53 (TP53)**

TP53 17p13.1 орналасқан типтік ісік супрессоры гені. Ол p53 ядролық ақуызын кодтайды. Мақсатты гендерінің экспрессиясын реттеу үшін p53 протеині әртүрлі жасушалық стресстерге жауап береді, осылайша жасуша циклінің тоқтатылуын, апоптозды, қартаюды, ДНҚ жөндеуін немесе метаболикалық өзгерістерді тудырады. Ли-Фраумени синдромын және көптеген тұқым қуалайтын глиомаларды қоса, адамның бірнеше қатерлі ісігі мутацияланған TP53 гендерімен және жабайы типтегі p53-ке қарағанда жартылай шығарылу кезеңі ұзағырақ болатын аберрантты p53 ақуызының шамадан тыс экспрессиясымен байланысты. Егер p53 мутациялары глиальды жасушалардың қатерлі трансформациясының басталуында маңызды рөл атқарса, яғни олар «мутатор» ретінде әрекет етеді, онда p53 аллельдерінің біреуінің тұқым қуалайтын мутациялары бар отбасыларда орталық жүйке жүйесінің қатерлі ісіктерінің дамуы. жүйесін күту керек. Сонымен қатар, анықталған глиоманың гистологиялық түрі p53 мутациялы глиоманың әдеттегі гистологиясына сәйкес болуы керек.[2]

## **1.2 Ми ісігінің дамуына әкелетін эпигенетикалық өзгерістер**

Глиомалар негізгі ДНҚ тізбегіне әсер етпестен ген экспрессиясының өзгеруіне әкелетін эпигенетикалық өзгерістер ауқымын көрсетеді. Бұл аберрантты эпигенетикалық механизмдер, соның ішінде ДНҚ метилденуі, гистон модификациялары, хроматинді қайта құру және микроРНК (миРНК) сияқты кодталмаған РНК-ның өзгерген экспрессиясы классикалық генетикалық өзгерістермен қатар ісік түзілудегі маңызды оқиғалар ретінде танылады.

Глиобластомадағы эпигенетикалық өзгерістерді зерттейтін зерттеулердің көпшілігі ДНҚ метилденуіне бағытталған. Оларға CpG аралдарының гиперметилияциясы жатады, ол ісіктерді басатын гендердің үнсіздігімен байланысты және онкогендердің аберрантты активтенуіне әкелетін генге тән гипометилияция. Геном бойынша гипометилияция да орын

алуы мүмкін, бұл хромосомалық тұрақсыздыққа, із қалдырудың жоғалуына және жасушалардың бақыланбайтын пролиферациясына әкелуі мүмкін.

Бүгінгі күні глиобластомада гендік промоторлардың ДНҚ метилдену құрылымында көптеген өзгерістер тіркелген. Бұл өзгерістер жасушалық циклді реттеуге қатысатын гендерге (мысалы, CDKN2A-p16INK4a және CDKN2B-p15INK4b), ісіктің басылуына (мысалы, RB, VHL, EMP3, RASSF1A және BLU), ДНҚ жөнделуіне және геномның тұтастығына (мысалы, MGMT, MGMT және hMLH1) әсер етеді. ), сондай-ақ ісік инвазиясын реттеумен және апоптозды тежеумен байланысты гендер (мысалы, DAPK1, TIMP3, CDH1, PCDHGA11 және TMS1/ASC)[8].

### **1.3 Ми ісігінің патогенезіндегі ген экспрессиясының рөлі**

Ми ісігінің патогенезінде ген экспрессиясы маңызды рөл атқарады. Геннің экспрессиясындағы өзгерістер ісіктің дамуын бастайтын бақыланбайтын жасушалардың бөлінуіне әкелетін молекулалық процестерге әсер етуі мүмкін. Осылайша, онкогендердің жоғары экспрессиясы ісік жасушаларының өсуіне және өмір сүруіне ықпал етеді, ал әдетте ісіктерді басатын басқа гендер ісік прогрессиясын төмендету қызметін жоғалтуы мүмкін. Ми ісігінің патогенезінде әртүрлі гендермен реттелетін сигналдық каскадтар сияқты молекулалық жолдар да маңызды рөл атқарады. Мысалы, PI3K/Akt және Ras/MAPK сияқты сигналдық жолдардың гиперактивациясы жасушалардың жылдам бөлінуіне және ісікке қарсы бақылау механизмдеріне төзімділікке әкелуі мүмкін.

Сонымен қатар, ДНҚ метилденуі және гистон модификациялары сияқты эпигенетикалық өзгерістер геннің экспрессиясына әсер етуі және ми ісігінің дамуында рөл атқаруы мүмкін.

Ми ісігінің патогенезіндегі ген экспрессиясының рөлін түсіну осы ауруды диагностикалау, емдеу және алдын алудың жаңа тәсілдерін әзірлеудің кілті болып табылады.

Апоптозды бақылауда ми ісігі тінінде EGLN3 (гипоксиядан туындаған 3 ақуызының Egl-9 отбасы) экспрессиясы маңызды рөл атқарады. EGLN3 экспрессиясының тежелуі глиома жасушаларында апоптоз деңгейінің төмендеуіне әкеледі. EGLN3 сонымен қатар ісік жасушаларының гипоксиялық жағдайларға бейімделуіне жол бермеуге көмектесетін HIF (гипоксиялық индукциялық фактор) белсенділігін теріс реттейді. Сонымен қатар, EGLN3 ісік жасушаларында VEGF (тамырлық эндотелий өсу факторы) экспрессиясын төмендетеді, капиллярлық тордың қалыпқа келуіне ықпал етеді. Қан тамырларының өсуін қалыпқа келтірудің бұл процесі химиотерапия мен сәулелік терапияның тиімділігін арттырудың перспективалы тәсілі ретінде пайда болады. EGLN3 басқа да негізгі жасушалық процестерді, соның ішінде ісік тамырларының өсуін реттеуге қатысады [9]. EGLN1 және EGLN3 гендерінің транскрипциялық



белсенділігінің төмендеуі HIF1A генінің экспрессиясының жоғарылауына әкеледі, өйткені олар іс жүзінде осы геннің табиғи ингибиторлары ретінде әрекет етеді[10].

SMAD7 TGF- $\beta$  (Transforming Growth Factor Beta) сигналдық жолында сигнал ингибиторы ретінде жұмыс істейді, бұл жолды белсендіретін Smad2/Smad4 кешендерінің түзілуін блоқтайды. Ол активиннің I типті рецепторларымен және BMP (сүйек морфогендік протеин) өзара әрекеттеседі, бұл да осы жолдарда теріс кері байланысқа әкеледі. SMAD7 экспрессиясы TGF- $\beta$  арқылы индукциялануы мүмкін болса да, ол EGF, интерферон- $\gamma$  және TNF- $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor Alpha) сияқты басқа ынталандыруға жауап береді. Бұл SMAD7-ге TGF- $\beta$  жолымен ғана емес, сонымен қатар басқа сигналдық жолдармен де әрекеттесуге мүмкіндік береді. SMAD7 генінің экспрессиясының төмендеуі TGF- $\beta$  сигналдық жолын белсендіруі мүмкін, ол пролиферацияға, ангиогенезге және ми ісіктерінің дамуына ықпал етеді. Сондықтан TGF- $\beta$  тежелуі клиникаға дейінгі зерттеулермен расталған бас миының қатерлі ісігімен күресудің перспективалы стратегиясы болып табылады[11]. SMAD7 экспрессиясын бағалау ми ісіктерінің дамуында маңызды болжамдық маркер болуы мүмкін.[12]

IDH (изоцитратдегидрогеназа) гендеріндегі мутациялары бар глиомалар IDH гендері қалыпты күйінде сақталатын глиомалармен салыстырғанда әртүрлі клиникалық мінез-құлыққа ие. IDH1 және IDH2 изоформаларындағы мутациялар гипоксиямен байланысты сигналдық жолдарды белсендіру арқылы псевдохипоксия деп аталатын нәрсені тудыруы мүмкін, тіпті қалыпты оттегі деңгейі болған кезде де. Бұл мутациялар  $\alpha$ -кетоглутарат пен НАДФН азаюына, сонымен қатар геномда эпигенетикалық өзгерістерді тудыратын және глиоманың дамуына ықпал ететін ДНҚ деметилденуін тежейтін онкометаболит 2-гидроксиглутараттың жинақталуына әкеледі. Проллилгидроксилазаны блоқтау HIF-1 $\alpha$  нысаналы гендерін белсендіретін және ангиогенез, өсу, дифференциация, апоптоз және аутофагия сияқты әртүрлі жасушалық процестерге әсер ететін HIF-1 $\alpha$  гидроксилденуінің және деградациясының бұзылуына әкеледі.

IDH гендерінің мутациялары бар глиомаларда NOTCH1 және NOTCH2 гендерінің белсенділігінің айтарлықтай жоғарылауы байқалады, шамамен 2 есе. NOCH рецепторлары мен лигандтары эмбриональды және постэмбриональды дамуда негізгі рөл атқаратын белоктар болып табылады. Бұл рецепторлар қатерлі ісіктің көптеген түрлерінде, соның ішінде ұйқы безінің, тоқ ішектің, өкпенің және мидың қатерлі ісігінде шамадан тыс экспрессияланған. NOTCH1 гені көбінесе глиобластома мультиформасымен сипатталатын және ісіктің өсуіне, дәріге төзімділікке, қайталануға және

инвазияға ықпал ететін нейрондық дің жасушаларында жоғары дәрежеде экспрессияланады.

Глиомасы бар тышқандарға жүргізілген зерттеулер NOTCH1 генінің инактивациясы өмір сүруді шамамен екі есе арттыратынын көрсетті. NOTCH2 генінің экспрессиясы глиомаларда қалыптан тыс жоғары және оның тежелуі U251 глиома жасушалық желісіндегі G0/G1 фазасында жасушалық циклдің тоқтауына әкеледі. Олар NOTCH1 және NOTCH2 гендерінің глиома терапиясының әлеуетті мақсаттары ретінде маңыздылығын көрсетеді.

IDH1 және IDH2 гендерінің мутациялары бар емделушілер қалыпты жағдайлармен салыстырғанда ісік тінінде EGFR генінің экспрессиясының екі есе дерлік артқанын көрсетеді. EGFR транскрипциялық белсенділігінің бұл артуы нашар болжамның маңызды көрсеткіші және глиомасы бар науқастарда мақсатты терапия үшін әлеуетті мақсат болуы мүмкін.[12]

#### **1.4 Ми ісігінің емге төзімділігінің жалпы механизмдері**

Ми ісіктерінің терапиясына төзімділік қазіргі нейрохирургияның маңызды мәселесі болып табылады. Сәулелік терапия мен химиотерапияға төзімділіктің пайда болуының екі негізгі механизмі бар: 1) химиотерапиялық препаратты «бейтараптандыруға» және ісік жасушасындағы иондаушы сәулеленуге жауапты арнайы сигналдық жолдарды белсендіру. Мұндай сигналдық жолдарға фосфоинозитид 3-киназа/протеинкиназа В (PI3K/AKT) және митогенмен белсендірілген протеинкиназа (MAPK)/ERK; 2) химиотерапия және иондаушы сәулелену әсерінен жасушалардың өлу механизмінің бұзылуы [13,14]. Бұл механизм р53 мутациялары арқылы апоптозды блоктауды, В-жасушалық лимфома 2 (Bcl-2) шамадан тыс экспрессияны және 95 дифференциация кластерінің экспрессиясының төмендеуін (CD95) қамтиды [13].

##### **1.4.1 Гематоэнцефалдық барьер**

Ми ісіктерінің химиотерапиясындағы үлкен мәселе гематоэнцефалдық бөгет (BBB) және ісік гематоэнцефалдық барьер (BBTB) сияқты кедергілердің болуы болып табылады. Бұл таңдамалы өткізгіш қорғаныс тосқауылдары ісікке дәрілік заттың жеткізілуіне жол бермеу арқылы ісікке қарсы терапияның тиімділігін төмендетеді[14]. Ісіктің кейбір аймақтарында BBB бұзылуы мүмкін, ол аймақтарда ісік гематоэнцефалдық бөгет (BBTB) түзіледі. Ол ағып тұрған тосқауыл контрастты күшейтілген магнитті резонансты бейнелеуді қолдана отырып, ми ісіктерін диагностикалауға мүмкіндік береді, бірақ оның бұзылуы ісік бойынша біркелкі емес. Осылайша, ми ісіктерінде тиімді дәрілік концентрацияға жету үшін бұзылған BBB-ге сүйену клиникалық тұрғыдан сәтті болмады. Сондықтан ми ісіктерін тиімді емдеу үшін «қалыпты» гематоэнцефалдық бөгет арқылы өте алатын

дәрі-дәрмектер мен дәрі-дәрмек жеткізу стратегияларын жасау пайдалы болар еді[16].

Қатерлі глиомаларды емдеу еңсеруге тиіс бірінші кедергі – клаудиндерден (әсіресе клаудин-1, -3 және -5), окклюдиндерден тұратын көп ақуызды тығыз байланыстар арқылы өзара байланысқан арнайы капиллярлық эндотелий жасушаларынан тұратын гематоэнцефалдық тосқауыл (BBB) функционалды адгезия молекулалары. Жалпы базальды қабат арқылы осы эндотелий жасушаларымен тығыз байланысты астроциттік терминалдар, перициттер және үзіліссіз нейрондық терминалдар кешендері болып табылады, олар бірге қалыпты мидағы биохимиялық және физикалық гомеостазды сақтауға жауапты нейроваскулярлық бірлікті құрайды. BBB тек шағын (<400 нм) және липофильді молекулалардың пассивті диффузиясына мүмкіндік береді; басқа молекулалар пиноцитоз, рецепторлар немесе тасымалдаушылар арқылы жүретін трансцитоз және еріткіш-тасымалдаушы ақуыз механизмдері арқылы BBB арқылы өтеді. BBB тұтастығы мен гомеостатикалық тепе-теңдікті одан әрі АТФ байланыстыратын кассеталық тасымалдаушылар, мысалы, мультирезистенттік-1 (MDR1), Р-гликопротеин, сүт безі қатерлі ісігіне төзімділік протеиндері және тамыр қабырғасының люминальды және аблюминальды жағында экспрессияланған басқа да дәріге төзімділік ақуыздарымен қамтамасыз етіледі. Бұл тасымалдаушылар ми паренхимасынан цитотоксикалық немесе мақсатты терапиялық агенттер сияқты ксенобиотиктерді тазартуға белсенді қатысады[17].

#### **1.4.2 Гипермутациялар**

Гипермутация алкилирлеуші заттарды қолданғаннан кейін қайталанатын ісіктерде жиі кездеседі (емдеуден кейінгі гипермутация) және керісінше, жаңадан анықталған глиомаларда (де ново гипермутация) сирек кездеседі. Гипермутацияның екі негізгі себебі бар деп болжанады: ДНҚ-полимеразаның конституциялық ақауларымен байланысты де жаңа жол және сәйкессіздікті қалпына келтіру (MMR) гендерін қамтитын жол. Соңғысы емдеуден кейін жиі белсендіріледі және темозоломидпен емдеуден кейін қайталанатын химиотерапияға сезімтал глиомалардағы MMR ақауларына байланысты жүре пайда болған қарсылықпен байланысты. Бағаналы жасушаларға байланысты гипермутация күйінің пайда болуының балама жолдары да мүмкін. Осылайша, TMZ химиотерапиясына ұшыраған кезде, дәрілік заттардың ағу белсенділігінің жоғарылауы және пролиферация жылдамдығының баяулауы нәтижесінде дің жасушалары жаңа гипермутантты емес және гипермутантты қайталануды тудыруы мүмкін. Гипермутацияның пайда болуы сонымен қатар глиоманы емдеу үшін радиация мен TMZ бір мезгілде қолданылуымен байланысты болды. Сәулелену Об-метилгуанин ДНҚ метилтрансферазасының (MGMT)

экспрессиясын тудыруы мүмкін, сонымен қатар TMZ-индукцияланған мутагенезге өтпелі төзімділікті қамтамасыз ететін өсудің уақытша тоқтатылуын тудыруы мүмкін. GBM гипермутациясының болуы пациенттің жақсы немесе нашар нәтижелерімен байланысты ма деген сұрақ ашық күйінде қалады[15].

### **1.4.3 Гипоксия**

Гипоксия немесе оттегінің жетіспеушілігі - бұл глиобластома сияқты тез дамитын ісіктердің ортақ ерекшелігі, өйткені олар қан тамырларынан және кейіннен қоректік заттармен қамтамасыз етілмейді. Мидың қалыпты оттегімен қамтамасыз етілуі ~40 мм рт.ст. Арт., ал GBM-де бұл көрсеткіш ~10 мм рт.ст. Радиотерапияға төзімділікпен байланысты Арт. Гипоксиялық ісіктер де химиотерапияға үлкен төзімділікті көрсетеді және дұрыс қалыптасқан тамырлар желісінің болмауына байланысты дәрі-дәрмекті енгізу қиын, бұл пациенттер үшін нашар болжамға әкеледі. TMZ емдеуі HIF1 $\alpha$  экспрессиясын арттыратыны көрсетілді, бұл басқалармен қатар, деді дифференциацияға, геномдық тұрақтылыққа, метастазға және дің жасушаларын қолдауға қатысатын гендерді реттейтін транскрипция факторы. CD133, глиоманың дің жасушаларының беткі маркері гипоксиялық глиомаларда да жоғарылайды, оның реттелуі HIF сигнализациясы арқылы жүреді деп есептеледі. Сондай-ақ гипоксиялық жағдайлар GBM жасушаларының стандартты емдеуге реакциясын төмендететінін көрсетті.

HIF1 $\alpha$  ісік метаболизмін өзгерте отырып, с-Мус онкогенімен бірге жұмыс істей алады. с-Мус, HIF1 $\alpha$ -мен әрекеттесе отырып, глюкозаның түсуіне делдалдық жасайтын GLUT1 глюкоза тасымалдаушысының және гликолиздің бірінші сатысы үшін қажетті фермент гексокиназа 2 (HK2) экспрессиясын арттырады, осылайша жасушаларды гликолизге бағыттайды. Бұл гликолизге көшу АТФ пен биомолекулалардың синтезін арттыру арқылы рак клеткаларына гипоксиялық жағдайларға бейімделуге көмектесетіні көрсетілген. HIF1 $\alpha$  сонымен қатар PI3K жолы арқылы бақыланады, мұнда GBM тән фосфатаза мен тензин гомологының (PTEN) жоғалуы HIF1 $\alpha$  активациясын күшейтуі мүмкін, ал PI3K тежелуі HIF1 $\alpha$  экспрессиясын азайтады[18].

### **1.5 Ми ісігі сұйық биопсиясының соңғы жетістіктері**

Жасушасыз ДНҚ (cfDNA) талдауына негізделген инвазивті емес сұйық биопсия әдістерін дамыту диагностикалық әдістердің жаңа буынына жол ашады. Айналымдағы жасушадан тыс ДНҚ алғаш рет 50 жылдан астам уақыт бұрын сипатталғанымен, онкологиялық науқастардағы ауытқулар ондаған жылдардан кейін байқалмады және мұндай адамдарда жасушадан тыс ДНҚ мөлшері жоғары екенін көрсетті. Қатерлі ісікпен ауыратын науқастарда

жасушадан тыс ДНҚ-ның бір бөлігі ісік ДНҚ болып табылады және айналымдағы ісік ДНҚ деп аталады. Негізінде, айналымдағы ісік ДНҚ-сын талдау ісікке тән өзгерістерді анықтай алады. Жетілдірілген есептеу әдістерімен біріктірілген келесі ұрпақ секвенирлеуін (NGS) пайдалану жақында әртүрлі ісік ауруларында айналымдағы ісік ДНҚ негізінде ісік генотипін жасауға мүмкіндік берді[19].

Дегенмен, сұйық биопсиялық талдаулардың анықтау жылдамдығы мен ерекшелігі әртүрлі және клиникалық талаптарға сәйкес келмеуі мүмкін. Осыған байланысты, ddPCR (сандық тамшыларды ПЦР) және жаппай параллельді реттілік сияқты биотехнологиядағы жетістіктер ddPCR және басқа микрофлюидтік технологиялардың сезімталдығы мен тиімділігін арттырудың нақты әдісі бола алады, мысалы, фондық ДНҚ-ның үлкен көлемінен соматикалық мутацияларды тасымалдайтын 0.1% ісік фрагменттерін анықтайды, сондықтан олар мутацияның ыстық нүктелерін немесе нақты препараттармен байланысты мутацияларды скринингке жарамды.

Балалардағы диффузды орта сызықты глиома үшін сұйық биопсияның жаңа стандарты ddPCR көмегімен құрылды, ол ЖС және плазмада H3.K27M анықтау үшін 100% дерлік ерекшелік пен сезімталдықты қамтамасыз етеді. Екінші жағынан, аз инвазивті әдіс ретінде сұйықтық биопсиясы ауру процесін, емдеу әсерін бақылау, сонымен қатар рецидивті болжау үшін жүйелі түрде жүргізілуі мүмкін[20].

Гематозэнцефалдық бөгеттің болуына байланысты, ми ісігі бар науқастардың плазмасындағы ісік жасушалары жоқ ДНҚ концентрациясы әдетте өте төмен, бұл плазмаға негізделген сұйық биопсияның кейбір талдауларын пациенттердің бір бөлігінде қолдану мүмкін емес дерлік етеді. Осыған байланысты жақында жүргізілген зерттеулер бағытталған ультрадыбыстық терапия сәтті сұйық биопсияның дамуына ықпал ететін биомаркерлердің шығарылуын арттырудың қауіпсіз және тиімді әдісі бола алатынын хабарлады [21,22].

## 2 Материалдар мен әдістер

### 2.1 RNA-Seq деректерін талдау құралдары

РНҚ секвенциясы (RNA-Seq) ген экспрессиясын өлшеудің таңдаулы әдісіне айналды[24]. Жоғары өнімді РНҚ секвенирлеуіндегі (RNA-Seq) соңғы жетістіктер бір үлгі үшін өте қысқа уақыт ішінде орасан зор деректер көлемін өндірді. Бұл деректер есептеу шығындарын азайту үшін минималды есептеу ресурстарын пайдалана отырып, оларды биологиялық салдарлар тұрғысынан ұйымдастыру және түсіндіру үшін есептеу құралдарын қатар дамытуды талап етті[25].

РНҚ секвенциясы (RNA-seq) транскриптомды профильдеу үшін барған сайын танымал әдіске айналғанымен, ауқымды RNA-seq арқылы жасалған деректердің үлкен көлемін талдау қиын болып қала береді. RNA-seq деректерін талдау әдетте (1) сплайсинг оқиғаларын идентификациялауды қоса алғанда, анықтамалық геномға миллиондаған қысқа реттелген оқуларды дәл туралаудан; (2) геннің, транскрипттің және экзонның экспрессия деңгейлерінің сандық көрсеткіштерінен; (3) әртүрлі биологиялық жағдайларда ген экспрессиясының дифференциалды талдауынан; және (4) дифференциалды экспрессияланған гендердің биологиялық интерпретациясынан тұрады[26].

STAR: Анықтамалық геномға жоғары өтімді секвенирлеудің үлкен жиынтықтарын салыстыру РНҚ-секв деректерін талдаудағы негізгі қадамдардың бірі болып табылады. STAR программалық пакеті бұл тапсырманы жоғары дәлдікпен және жылдамдықпен орындайды. Аннотацияланған және жаңа сплайс-қосылыстарын анықтаудан басқа, STAR химерикалық және сақина тәріздес РНҚ (circular RNA) сияқты күрделі РНҚ тізбегін анықтауға қабілетті.

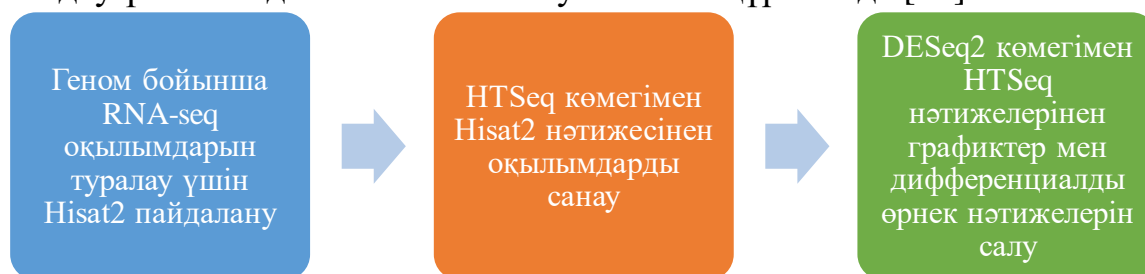
STAR кез келген ұзындықтағы сплайсталған тізбегін орташа қателік жылдамдықтарымен теңестіре алады, бұл жаңа секвенирлеу технологиялары үшін ауқымдылықты қамтамасыз етеді. STAR транскрипт/ген экспрессиясын сандық анықтау, дифференциалды ген экспрессиясы, жаңа изоформаны қайта құру және сигнал визуализациясы сияқты көптеген талдаулар үшін пайдалануға болатын файлдарды шығара алады[27].

TopHat және Cufflinks: TopHat оқылымдарды туралау үшін “exon first” әдісін пайдаланады. Ол анықтамалық геномға қысқа, іргелес қосылмаған оқылымдарды салыстыру үшін Bowtie пайдаланады. Одан кейін іргелес емес оқылымдар қысқа фрагменттерге бөлінеді және экзондар арасындағы түйіспелерді анықтау үшін тәуелсіз түрде тураланады. Cufflinks TopHat туралау файлы немесе транскриптомды жинауға және қайта құруға жалғауларды туралауға мүмкіндік беретін басқа теңестіргіштерді пайдаланады. Ол ықтималдық тәсілді пайдалана отырып, транскрипттерге

тураланған оқылымдардың қабаттасатын «бумаларын» жинайды, содан кейін бірнеше терминдерді біріктіреді және сәйкесінше Cuffmerge және Cuffcompare көмегімен транскриптің көптігін бағалайды. Сондай-ақ, дифференциалды ген экспрессиясын есептеу үшін Cuffdiff функциясын пайдалануға болады[25]. TopHat және Cufflinks RNA-seq деректерін талдауда, әсіресе транскрипт жинағы мен өзгерістерді талдауда алғашқы танымал құралдар, бірақ қазіргі уақытта олар HISAT және StringTie сияқты басқа құралдармен алмастырылды.

HISAT2: Тиімді және жылдам бағдарлау құралы, ол бүкіл геномды және транскриптомды бағдарлауға арналған. Hisat2 геном бойынша RNA-seq ақпаратын жылдам туралайды, соның арқасында геномдағы реттіліктің бастапқы орнын анықтауға мүмкіндік береді. Bwt алгоритмі және FM индексі негізінде Hisat2 жасалып шығарылды, ол TopHat-қа қарағанда көбірек уақыт пен компьютер жадысын үнемдейді.

HTSeq: Python негізіндегі портативті санау бағдарламалық құралы. Hisat2 картасының нәтижелеріне сүйене отырып, HTSeq арқылы біз оқулар санын санай аламыз. HTSeq FASTQ, FASTA, SAM және BAM сияқты файлдар үшін аудармашыны қамтамасыз етеді, сонымен қатар гендік аннотация файлын (GFF, GTF және т.б.) қамтиды. Дегенмен, HTSeq есептемес бұрын, біз бұл файлдардың пішімін сұрыптауымыз және түрлендіруіміз керек, өйткені Hisat2 арқылы жасалған нәтижелер SAM файлдары болып табылады. Осы файлдарды түрлендіруден кейін біз оқылымдардың қай генге жататынын, сондай-ақ оқылымның нақты санын анықтай аламыз. Сонымен қатар, бағдарлама келесі дифференциалды өрнекті талдау үшін пайдаланылатын санау кестесін құра алады[28].



**5-сурет** - Деректерді талдау процесі мен құралдарының блок-схемасы.

DESeq2: Ген көрсеткіштерінің статистикалық талдауларынан пайдалы деректер мен көрнекі диаграммаларды шығару үшін пайдаланылуы мүмкін R тіліндегі статистикалық пакет. Алынған мәтіндерді DESeq2-ге импорттағаннан кейін біз матрицаны ала аламыз. Содан кейін біз деректерді әртүрлі бұрыштардан визуализациялау үшін матрицадағы бірқатар әдістерді пайдалана аламыз. Мысалы, матрица аяқталғаннан кейін біз «Нәтижелер» пәрменін пайдаланып дифференциалды ген экспрессиясының толық суретін ала аламыз. RNA-seq генінің оқу санау матрицасы дисперсияның жоғары

дәрежесіне ие және нормадан кейін өрнек деректерінің чипіне ұқсайтын өрнек матрицасы алынады[28].

edgeR: DESeq сияқты R-дегі статистикалық пакет, ол әртүрлі жағдайлар немесе үлгілер топтары арасында дифференциалды экспрессияланған гендерді анықтау үшін қолданылады. Ол биологиялық өзгергіштікті ескереді және ген экспрессиясындағы статистикалық маңызды өзгерістерді анықтауға мүмкіндік береді.

Limma: Микрочип деректерін талдау үшін кеңінен қолданылатын BioС пакеті. Limma «микрочиптер үшін сызықтық модельдер» дегенді білдіреді. Limma «сызықтық модельдер» деп аталатын статистикалық модельдердің кең классын орнатуға арналған функционалдылықты қамтиды. Мұндай модельдердің мысалдары сызықтық регрессия және дисперсияны талдау болып табылады. Limma функциясының көп бөлігі микроәліметтер үшін әзірленгенімен, limma моделін орнату процедуралары деректердің көптеген түрлері үшін пайдалы және микромассивтермен шектелмейді. Мысалы, бұрын атап өткеніміздей, ДНҚ метилдену деректері де осы пакеттің көмегімен талданады[29].

## 2.2 Микрочип талдау құралдары

Affymetrix Expression Console массивтері сияқты классикалық микромассив технологиялары мРНҚ-ны зерттеу арқылы гендер жиынтығының белсенділігін бақылау үшін бір чипті пайдаланады. Әрбір чипте биологиялық үлгінің мРНҚ-сын байланыстыру үшін нуклеин қышқылдарының жіптері бар зондтардың көп саны бар. мРНҚ фторхромдармен белгіленеді және микромассивтер әртүрлі эксперименттік жағдайларда мРНҚ экспрессиясының деңгейін сандық анықтау үшін нуклеин қышқылдарының комплементарлы тізбектері арасындағы будандастыру ерекшелігін пайдаланады. Зондтарға будандастырылған мақсатты мРНҚ саны мен олардың бастапқы үлгілердегі концентрациясы арасындағы тікелей пропорционалдылық зерттеушілерге әртүрлі жағдайларда дифференциалды ген экспрессиясын сандық бағалауға мүмкіндік береді.

GeneSpring: Геномдағы құрылымдық өзгерістерді және олардың ауруға бейімділік пен прогрессияға әсерін зерттеуге мүмкіндік береді. Affymetrix және Illumina генотиптеу деректерін жұптастырылған және жұпталмаған талдау үшін жұмыс үрдістерін қамтамасыз ете отырып, GeneSpring ғалымдарға геномдық көшірме санының вариациясының (CNV) және гетерозиготалықтың (LOH) жоғалу аймақтарын жылдам анықтауға мүмкіндік береді. Қызығушылықты оятатын аймақтар ашылғаннан кейін, осы аймақтарды қабаттасатын гендер анықталуы мүмкін және көшірме санының вариацияларының биологиялық әсерін кейінгі GO немесе жол талдауларында бағалауға болады.



GeneSpring бір деректерді талдау қолданбасының ішінде бірнеше деректер түрлеріне арналған кешенді талдау және визуализация құралдарын ұсынады. Бұл платформаны пайдалана отырып, ген экспрессиясы, miRNA, экзонды сплайсинг, геномның көшірме нөмірі, генотиптеу, протеомдық және метаболомикалық деректер сияқты гетерогенді деректерді бір жобаға біріктіруге болады, бұл зерттеушілерге бір пайдаланушы интерфейсінде әртүрлі эксперименттердің нәтижелерін талдауға және көруге мүмкіндік береді.

GEO2R: GEO жақында GEO2R веб-қосымшасын шығарды. GEO2R пайдаланушыларға дифференциалды ген экспрессиясын анықтауға және визуализациялауға көмектесу үшін GEO деректерінің күрделі R негізіндегі талдауын орындауға мүмкіндік беретін қарапайым интерфейссті қамтамасыз етеді. GEO2R сервері GEO деректерін түрлендіру және талдау үшін белгілі Bioconductor R бумаларын пайдаланады және нәтижелер маңыздылығы бойынша реттелген гендер кестесі ретінде ұсынылады және GEO Profile сызбалары арқылы көрнекі түрде көрсетілуі мүмкін. GEO, басқа DataSet талдау құралдарынан айырмашылығы, GEO2R таңдалған DataSet жазбаларына сүйенбейді және провайдер ұсынған бастапқы деректерді тікелей сұрайды. GEO зерттеулерінің 90%-дан астамын осылай талдауға болады. Бұл дерекқордың кеңірек аудиторияға қолжетімділігін кеңейтеді, бұл көбірек GEO деректерін уақтылы талдауға және салыстыру үлгі топтары мен талдау түрін таңдауда үлкен икемділікке мүмкіндік береді.[30]

### 2.3 Жолдар мен желілерді талдау

GSEA: Геномды, транскриптомды, протеомды және метаболомды сипаттайтын -омика деректерінің үнемі өсіп келе жатқан қолжетімділігін ескере отырып, осы күрделі деректер жиынынан биологиялық ақпаратты алуға болатын тәсілдерге тұрақты қажеттілік бар. Ген жиынтығын байыту талдауы (GSEA) өзін транскриптомиялық деректерді талдаудың ең танымал және күшті құралдарының бірі ретінде көрсетті. Сонымен қатар, GSEA алгоритмі деректердің басқа түрлерін талдау үшін пайдалы болды, соның ішінде ДНҚ көшірме санының вариациялары, протеомика, фосфопротеомика және метаболомика.

Деректер түріне қарамастан, GSEA негізінде жатқан негізгі тұжырымдама функционалдық байланысты гендердің алдын ала анықталған жиынтықтары жеке гендерді зерттеу арқылы өткізілмейтін маңызды байытуды көрсете алады. Бүкіл деректер жиынтығын фондық ретінде пайдалана отырып, зерттеушілер қызығушылық тудыратын фенотипте(терде) жоғары және төмен реттелетін жолдарды анықтай алады. GSEA тәсілі кең тараған табысқа ие болды және жеке гендік жиынтықтарды талдау үшін көптеген кеңейтулер, жақсартулар және вариациялар үшін негіз болды[31].

Ingenuity Pathway Analysis (IPA): Көптеген омика зерттеушілері қолданатын негізгі бағдарлама Ingenuity Pathway Analysis (IPA) деп аталады. Бұл жетекші жолды талдау бағдарламасы кеңейтілген жолды талдауды жүзеге асырады және белгілі биологиялық қатынастарды пайдалана отырып нәтижелерді түсіндіреді. IPA кез келген өлшемдегі эксперименттік деректерді талдау үшін пайдаланылуы мүмкін және зерттеушіге немесе дәрігерге препараттар, ақуыздар, гендер және химиялық заттар туралы нақты ақпарат алуға мүмкіндік береді. Осылайша, протеомика, геномика, транскриптомика, метаболомика және липидомика қолданатын эксперименттерден алынған деректер төменгі ағын әсерлерін, жоғары ағын әсерлерінің модуляторларын анықтау және жаңа биомаркер мақсаттарын анықтау үшін пайдаланылуы мүмкін. Күшті алгоритмдер ең маңызды жолдарды анықтау және себеп-салдар байланыстары бар жаңа реттеуші желілерді белсендіру немесе тежеу үшін қолданылады.[32]

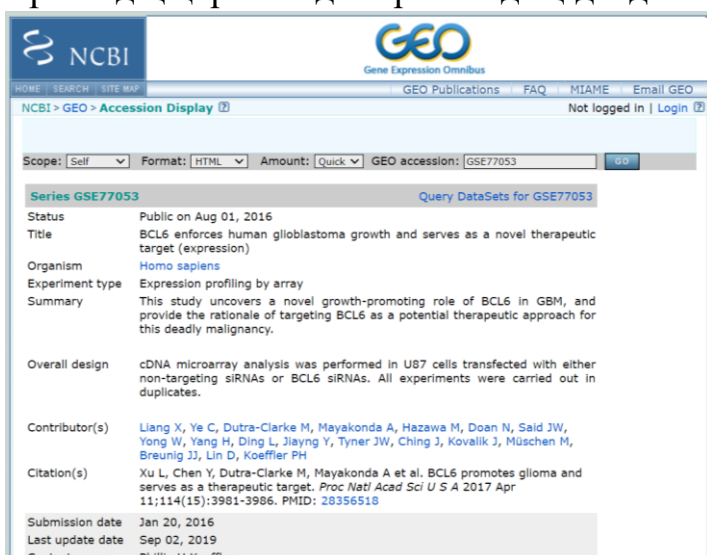
## 2.4 Зерттеу методикасы

Бұл дипломдық жұмыстың негізгі бөлігі әдеби шолуға бағытталған болатын. Осы жұмыстың барысында біз ми ісігінің пайда болу басты механизмдерін, емдеу шараларын және молекулаларды тұрғыдан жете түсіндік. Дипломдық жұмыстың келесі бөлігінде түрлі биоинформатикалық құралдарды қолдана отырып GEO базасынан алынған 4 үлгінің зерттеуі орындалды. Бұл жобаны орындау үшін ең алдымен бізге жоғарыда атап өтілген биоинформатикалық құралдардың қолдану жолын үйреніп, танысу қажет болатын.

Глиобластома (ГБМ) – нашар болжамы бар бас миының қатерлі ісігінің агрессивті түрі. Соңғы зерттеулер BCL6 транскрипция факторы глиобластома жасушаларының өмір сүруі мен пролиферациясында маңызды рөл атқара алатынын анықтады. Бұл зерттеуде BCL6 экспрессиясын және оның глиобластома жасушаларына әсерін талдау үшін 4 үлгіден тұратын GEO GSE77053 деректер жинағын қолдандық. Бұл деректер жинағы адамның 4 глиобластома үлгісіне (GSM2043114, GSM2043115, GSM2043116, GSM2043117) арналған микроаррей технологиясы арқылы алынған ген экспрессиясы деректерін қамтиды. Бұл зерттеу GBM-дегі BCL6-ның өсуін ынталандыратын жаңа рөлді ашады және осы өлімге әкелетін қатерлі ісік үшін ықтимал терапевтік тәсіл ретінде BCL6 мақсатты терапия қажеттілігін қолдайды.

Неге тек төрт үлгі десеңіздер, біріншіден, көптеген үлгілерді өңдеу айтарлықтай уақыт пен есептеу ресурстарын талап етеді, бұл біздің жағдайда интернетке жылдамдығының баяу болғанына және уақыт аз болғанға байланысты шектеулі. Екіншіден, үлгілер санын төртке дейін шектеу

олардың әрқайсысын егжей-тегжейлі және сапалы талдауға мүмкіндік береді, бұл біздің қорытындыларымыздың дәлдігі мен сенімділігін арттырады.



6 - сурет - GEO базасы

Submission date Jan 20, 2016  
 Last update date Sep 02, 2019  
 Contact name Phillip H Koeffler  
 E-mail(s) [phillip\\_koeffler@nuhs.edu.sg](mailto:phillip_koeffler@nuhs.edu.sg)  
 Organization name Cancer Science Institute  
 Lab H. Phillip Koeffler's lab  
 Street address 14 Medical Drive  
 City Singapore  
 ZIP/Postal code 117599  
 Country Singapore

Platforms (1) [GPL10558](#) Illumina HumanHT-12 V4.0 expression beadchip

Samples (4)  
[Less...](#)

<a href="#">GSM2043114</a>	U87_NT_1
<a href="#">GSM2043115</a>	U87_siBCL6_1
<a href="#">GSM2043116</a>	U87_NT_2
<a href="#">GSM2043117</a>	U87_siBCL6_2

**Relations**  
 BioProject [PRJNA309336](#)

Analyze with GEO2R

Download family	Format
<a href="#">SOFT formatted family file(s)</a>	SOFT <a href="#">?</a>
<a href="#">MINIML formatted family file(s)</a>	MINIML <a href="#">?</a>
<a href="#">Series Matrix File(s)</a>	TXT <a href="#">?</a>

Supplementary file	Size	Download	File type/resource
<a href="#">GSE77053_RAW.tar</a>	26.2 Mb	<a href="#">(http)(custom)</a>	TAR
<a href="#">GSE77053_non-normalized.txt.gz</a>	832.4 Kb	<a href="#">(ftp)(http)</a>	TXT

7-сурет – GEO базасынан алынған төрт үлгі

Деректерді талдау үшін біз гендік экспрессия деректерін визуализациялауға және түсіндіруге мүмкіндік беретін GEO2R құралын қолдандық. GEO2R деректерді қалыпқа келтіру және өрнек

айырмашылықтарының маңыздылығын анықтау үшін limma сияқты R бумаларын пайдаланады. Алынған графиктер мен диаграммалар орташа дисперсия үрдістерін, өрнек тығыздығын, қорап сызбаларын және UMAP-ты қамтиды. Бұл визуализациялар әртүрлі үлгілер бойынша ген экспрессиясының таралуы мен өзгергіштігін түсінуге көмектеседі.

Ген экспрессиясындағы айырмашылықтардың маңыздылығын анықтау үшін GEO2R-дегі limma пакетімен қамтамасыз етілген t-тесттері және басқа статистикалық әдістер қолданылды. Нәтижелердің маңыздылығын бағалау үшін P-мәндері және түзетілген p-мәндері (Бенджамин-Хохберг түзетуі) есептелді.

### 3 Зерттеу нәтижелері

#### 3.1 Үлгілерді эксперименттік топтарға бөлу

Глиобластомадағы BCL6 геннің рөлін зерттеу үшін әртүрлі siRNA-мен трансфекцияланған U87 жасуша линиялары пайдаланылды. Үлгілер екі топқа бөлінді: бақылау тобы және BCL6 ақуызының экспрессиясы жоғарыланған топ. Бақылау тобында BCL6 ақуызының синтезі RNAi (РНҚ интерференциясы) әдісі арқылы басылды, бірақ екінші топта бұл ген басылмады.

Group	Accession	Title	Source name	Cell line	Transfection
cancer	GSM2043114	U87_NT_1	cell line	U87	non-targeting siRNA
cancer	GSM2043116	U87_NT_2	cell line	U87	non-targeting siRNA
control	GSM2043115	U87_siBCL6_1	cell line	U87	BCL6 siRNA
control	GSM2043117	U87_siBCL6_2	cell line	U87	BCL6 siRNA

#### 8-сурет - GEO2R құралы көмегімен екі топқа бөлінген үлгілер

А) Қатерлі ісік тобы (cancer):

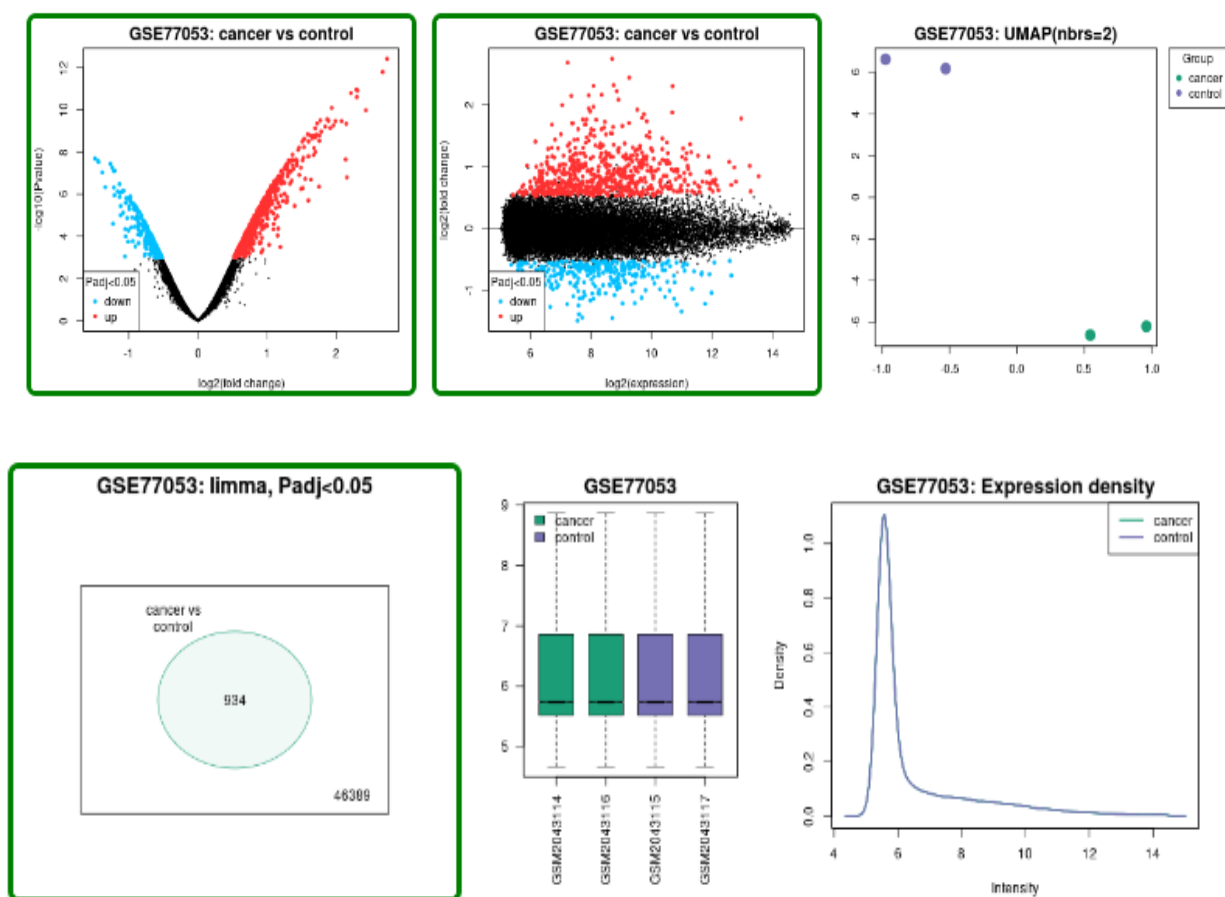
GSM2043114 (U87\_NT\_1) және GSM2043116 (U87\_NT\_2) үлгілері мақсатты емес siRNA-мен трансфекцияланған U87 жасуша желілері болды. Бұл топ siRNA-ны еңгізуден туындаған спецификалық емес әсерлерді болдырмау үшін қызмет етті.

Б) Бақылау тобы (control):

GSM2043115 (U87\_siBCL6\_1) және GSM2043117 (U87\_siBCL6\_2) үлгілері BCL6 ақуызының синтезі BCL6-ға бағытталған арнайы siRNA көмегімен басылған болды. Бұл топ BCL6 тежелуінің глиобластомадағы жасушалық процестерге әсерін бағалау үшін пайдаланылды.

#### 3.2. Дифференциалды экспрессиялық талдау (DEG) және BCL6 ақуызының ми ісіндегі рөлі мен оның негізгі онкогендердің экспрессиясына әсері

Келесі қадамда дерекқордан алынған және де топтар бойынша жіктелген үлгілердің GEO2R құралының көмегімен визуализасы жасалынды. GEO2R микромассивті талдау үшін қолданылады және әртүрлі топтар арасындағы гендердің экспрессиясындағы айырмашылықтарды аша алады. Әрі қарай алынған нәтижелердің дифференциалды экспрессиялық талдауы (DEG) жасалынды.

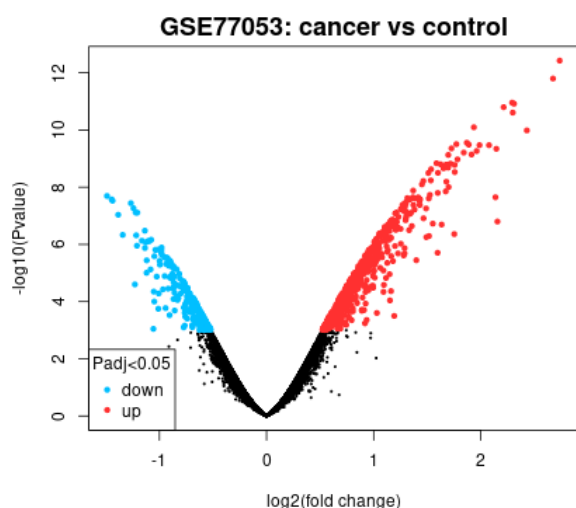


**9-сурет - Визуализациядан кейін алынған нәтижелер**

Бірінші диаграмма «cancer» тобы және «control» тобы арасындағы дифференциалды экспрессиялық талдау нәтижелерін көрсететін вулканоплотты көрсетеді. Вулканоплот екі топ арасындағы гендердің экспрессиясындағы елеулі айырмашылықтарды визуализациялауға көмектеседі.

Қызыл нүктелермен «cancer» тобындағы гендердің экспрессиясы көрсетілген, ал көк нүктелер бақылау тобының гендерінің экспрессиясын көрсетеді. Диаграммаға мұқият қараған кезде «cancer» тобындағы гендердің экспрессиясы бақылау тобына қарағанда жоғарылап кеткені көрінеді.

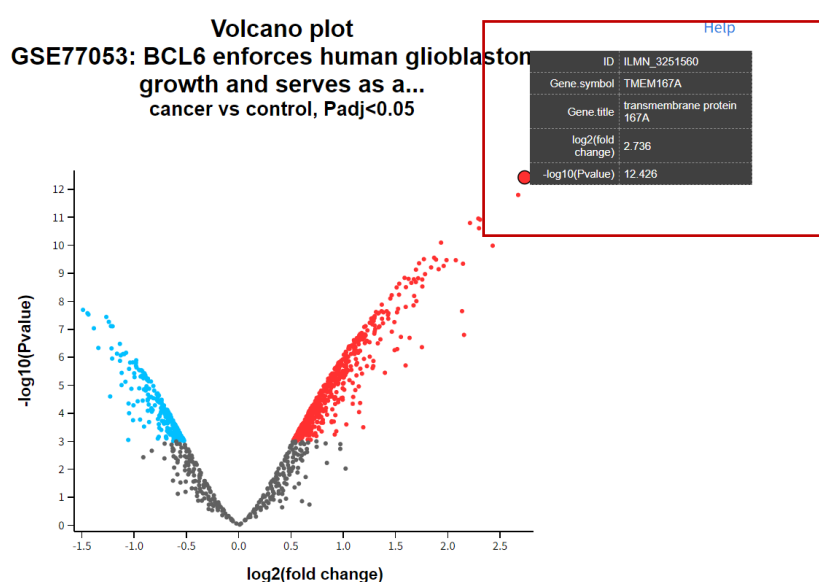
Бұл VCL6 ақуызының адам миының глиобластомасының пайда болуында, пролиферациясында, апоптоз процессіне қарсы тұруында маңызды рөл атқаратынын дәлелдейді және оның терапевтік мақсат ретінде әлеуетін көрсетеді. Экспрессияда елеулі өзгерістерді көрсеткен гендер әрі қарай зерттеулерге және глиобластоманы емдеудің жаңа тәсілдерін әзірлеуге негіз бола алады.



**10-сурет** - Екі топ арасындағы гендердің экспрессиясындағы айырмашылықтарды көрсететін вулканплот.

BCL6 экспрессиясының басылуы гендердің экспрессиялық профильдерінде елеулі өзгерістерге әкеледі, бұл пролиферацияның төмендеуімен, инвазиямен және ісік жасушаларының апоптоз деңгейінің жоғарылауымен көрінеді.

Қызыл нүктелермен белгіленген топта BCL6 әсерінен экспрессиясы айтарлықтай өскен гендер анықталды. Бұл гендер ісік жасушаларының өмір сүруіне және өсуіне ықпал ететін онкогендер болуы мүмкін. Анықталған гендердің арасында ең жоғары экспрессия деңгейін көрсеткен TMEM167a, MGMT1, IL1B, CERK, ACLY, DUSP6, ARPP19 гендері болатын.



**11-сурет** - Волканплотта BCL6 ақуызының әсерімен белгіленген геннің сипаттамасы

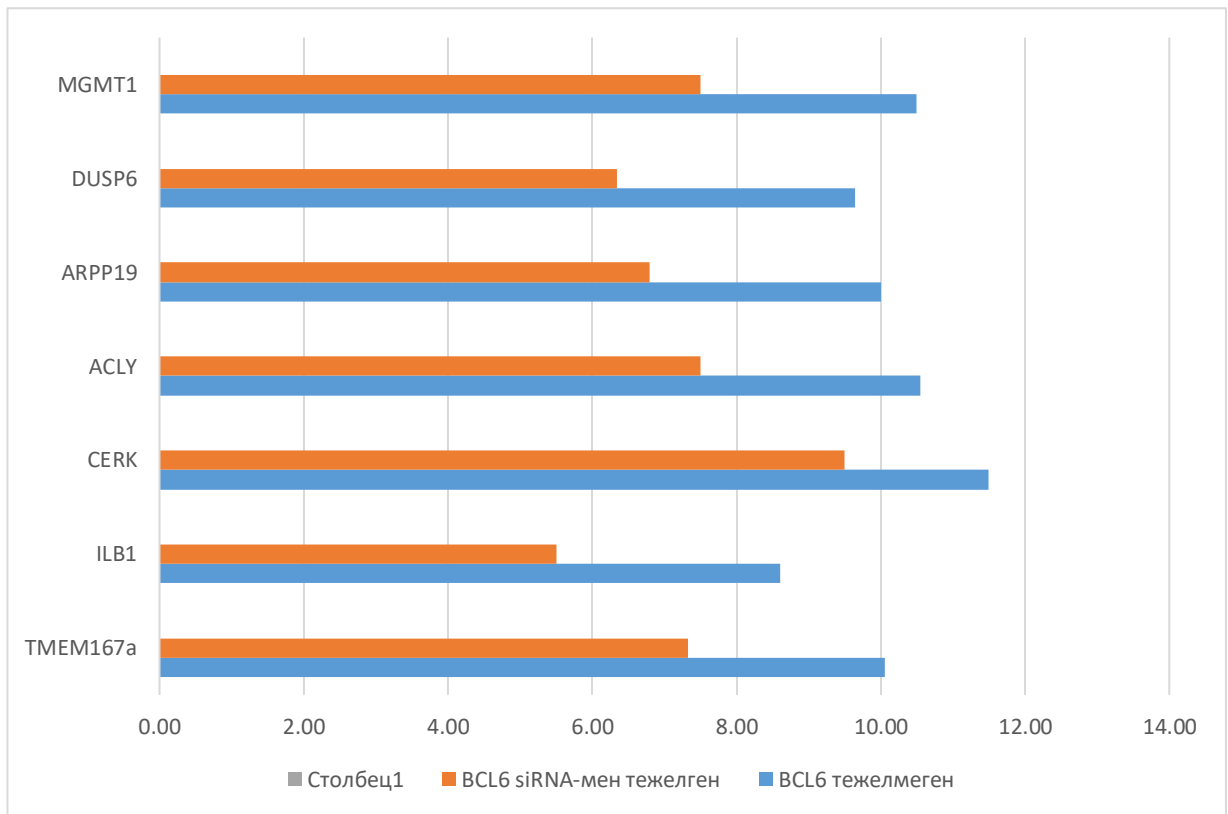
X осі ( $\log_2(\text{fold change})$ ): Бұл ось екі топтың арасындағы ген экспрессиясының өзгерістерінің арақатынасын көрсетеді.  $\log_2(\text{fold change})$  мәні ген экспрессиясының қаншалықты өзгергенін көрсетеді. Оң мәндер (нөлдің оң жағында) бақылау тобымен салыстырғанда экспрессиясы жоғары реттелетін гендерді көрсетеді. Теріс мәндер (нөлдің сол жағында) бақылау тобымен салыстырғанда экспрессиясы төмендетілген гендерді көрсетеді.

Y-осі ( $-\log_{10}(P \text{ мәні})$ ): Бұл ось ген экспрессиясының өзгеруінің статистикалық маңыздылығын көрсетеді. Y осіндегі мән неғұрлым жоғары болса, өзгеріс соғұрлым маңызды болады. Жоғары Y мәндері төмен p-мәндерін көрсетеді, бұл ген экспрессиясының өзгеруінің жоғары статистикалық маңызды екенін көрсетеді.

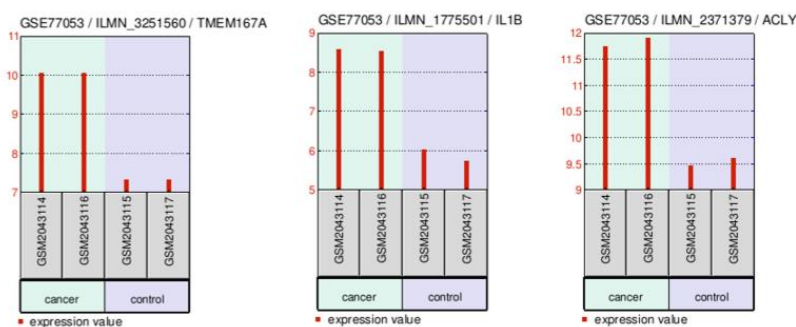
Бұл суретте TMM167a геннің экспрессиясы BCL6 ақуызының әсерінен қатты жоғарылап кеткені көрсетілген.

Келесі диаграммада BCL6 siRNA көмегімен тежелген кездегі және BCL6 ақуызы тежелмеген кездегі негізгі онкогендердің экспрессиясы сипатталған. Бұл ақуыз тежелген уақытта төмендегі гендердің экспрессиясы айтарлықтай төмендейді, ал екінші жағдайда керісінше бұл гендердің экспрессиясы бірінші жағдайға қарағанда айтарлықтай жоғары. Бұл жерде BCL6 ақуызы онкогендердің белсенділігін көтеріп, мидің қатерлі ісігінің жылдам дамуына әкеліп соқтыратыны анық көрінеді, сонымен қатар BCL6 әртүрлі ісікке қарсы емдеу әдістеріне, соның ішінде химиотерапияға, сәулелік терапияға және иммунотерапияға төзімділікті арттырады. Бұл апоптозды басу, жасуша пролиферациясын қолдау, жасушалардың өмір сүруін индукциялау, иммундық жауапты және метаболикалық бейімделуді басу арқылы болады. BCL6 емдеуге төзімділікке ықпал ететін механизмдерді түсіну BCL6-ны басуға және ісік жасушаларын ісікке қарсы емдеуге сенсублизациялауға бағытталған жаңа терапевтік стратегияларды жасауға көмектесуі мүмкін.





**12 сурет** – Глиобластомадағы негізгі гендердің BCL6 ақуызы тежелген және тежелмеген жағдайдағы экспрессиясы



**13 сурет** – GEO2R-де көрсетілген негізгі гендердің BCL6 ақуызы тежелген және тежелмеген жағдайдағы экспрессиясы

BCL6 p53 және p21 сияқты апоптозбен байланысты гендердің экспрессиясын басады. Бұл ісік жасушаларына әдетте химиотерапия агенттері мен сәулелік терапия әсерінен болатын бағдарламаланған жасуша өлімін болдырмауға мүмкіндік береді. Апоптотикалық жолдардың тежелуі жасушаларды жасуша өлімін индукциялауға бағытталған емдеуге төзімді етеді. BCL6 сондай-ақ ісік жасушаларының жылдам өсуіне және емдеуден туындаған стресс жағдайында олардың өмір сүруіне ықпал ететін жасушалық циклды реттейтін гендерді басу арқылы жасуша пролиферациясын ынталандыруы мүмкін. Проллиферативті белсенділік емге төзімді жасуша клондарының даму ықтималдығын арттырады.

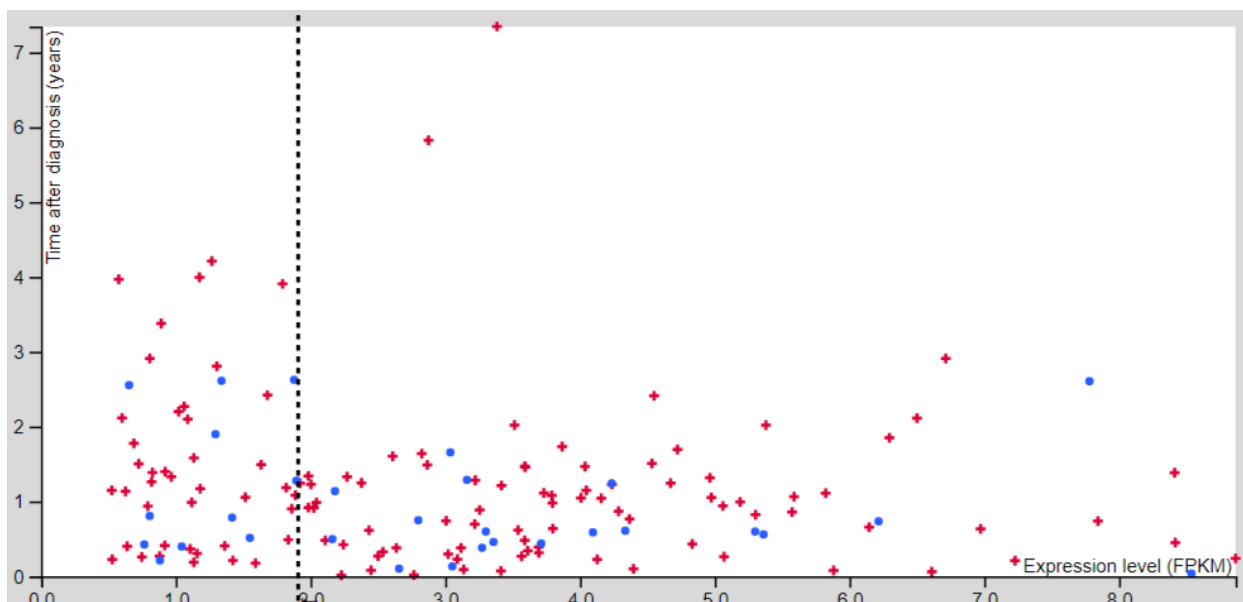
### 3.3 Human Protein Atlas дерекқоры арқылы нәтижелерді тексеру

Ми ісігіндегі негізгі ген экспрессиясы туралы GEO2R нәтижелерін растау үшін адам протеинінің атласын қолдандық. Адам протеинінің атласы антиденелерді иммуноцитохимиялық бояу нәтижелерін ұсынды, бұл біз бұрын алынған деректермен сәйкес келді және MGMT1, IL1B, CERK, ACLY, DUSP6, ARPP19 гендерінің экспрессиясының жоғары деңгейін көрсетті.

Кесте 1 – Human Protein Atlas дерекқорынан алынған ми глиомасы бар науқастардан алынған материалдың иммуноцитохимиялық бояу нәтижелері

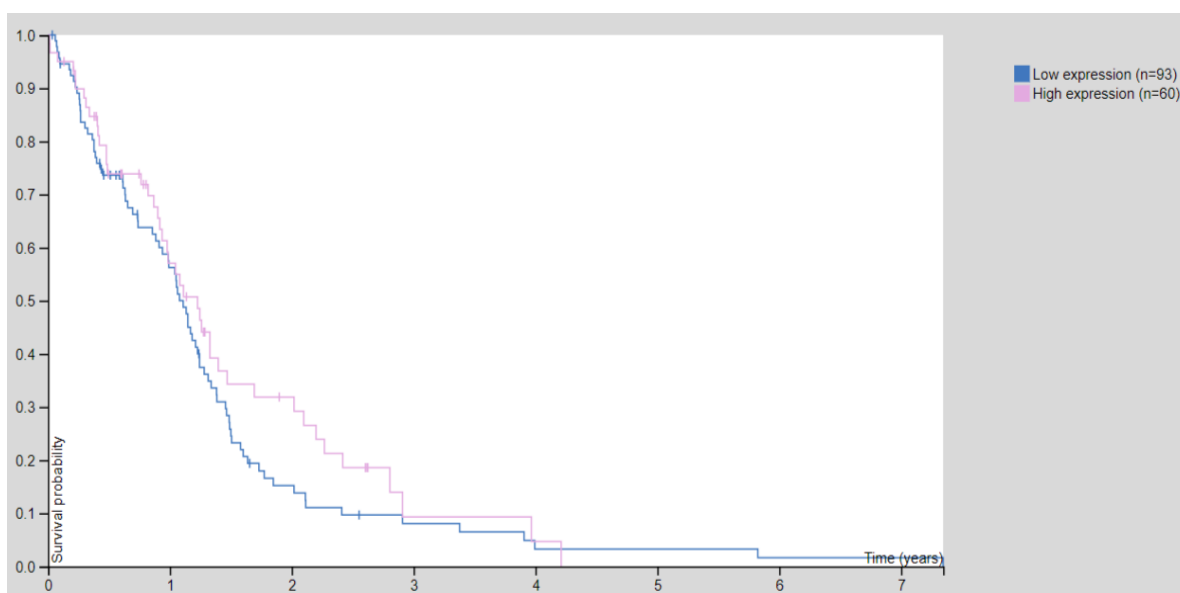
			
<p><b>MGMT1</b>  Жынысы: еркек  Жасы: 75  Бояу: орташа  Стадиясы: 2-ші стадия  Қарқындылығы: жоғары  &lt;25%</p>	<p><b>ACLY</b>  Жынысы: әйел  Жасы: 58  Бояу: жоғары  Стадиясы: 4-ші стадия  Қарқындылығы: жоғары  &gt;75%</p>	<p><b>DUSP6</b>  Жынысы: еркек  Жасы: 58  Бояу: орташа  Стадиясы: 1-ші стадия  Қарқындылығы: орташа  75%-25%</p>	<p><b>ARPP19</b>  Жынысы: әйел  Жасы: 22  Стадиясы: бастапқы стадия  Бояу: төмен  Қарқындылығы: төмен  75%-25%</p>

Жоғары бояу деңгейі берілген геннің жоғары экспрессиясын білдіреді және метастазалық қатерлі ісіктерде анықталуы мүмкін, төмен бояу деңгейі қолайлы болжамы бар ісік түрлерімен байланысты болуы мүмкін. Жоғарыдағы кестеде мидің қатерлі ісігі стадиясымен иммуноцитохимиялық бояудың қарқындылығы арасындағы корреляцияны байқауға болады, бұл атап өтілген негізгі гендедің экспрессиясы қатерлі ісік стадиясымен байланысты болуы мүмкіндігін көрсетеді, демек ісік стадиясы неғұрлым жоғары болса, онкогендердің экспрессиясы да соғұрлым жоғары. Бұл гипотеза қатерлі ісікті бастапқы стадияларында анықтау және емдеудің маңыздылығын дәлелдейді.



**14 сурет** – MGMT генінің экспрессиясымен диагноздан соң өткен уақыттың науқастардың тірі қалуының мүмкіндігімен байланысы

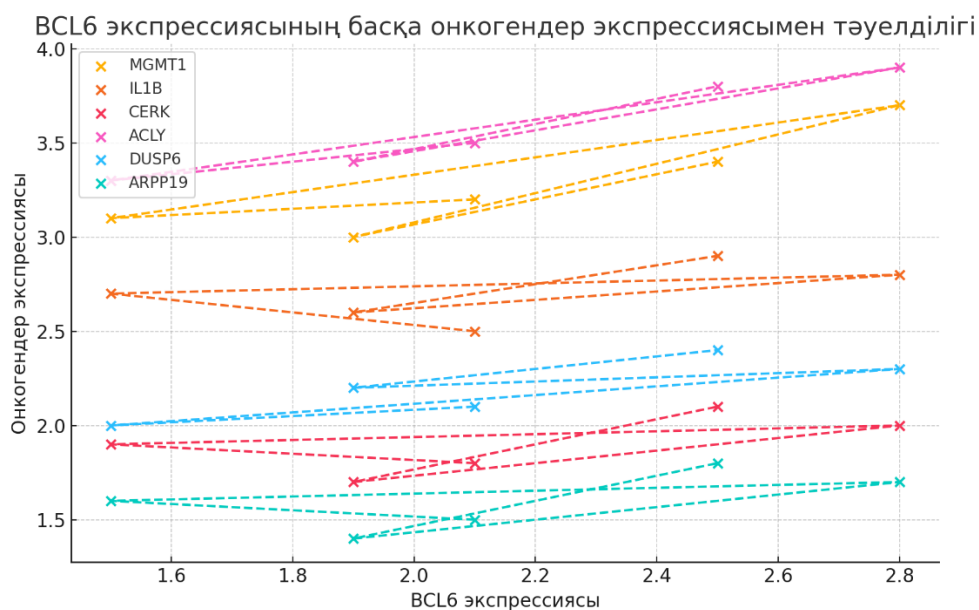
Бұл суретте қызыл белгілермен қайтыс болған науқастар, ал көк белгімен тірі қалған науқастар белгіленген, X осі MGMT генінің экспрессия деңгейін білдіреді. Экспрессия жоғарылаған сайын науқастардың өлім саны көбейіп тірі қалу мүмкіндігі төмендейді.



**15 сурет** – BCL6 ақуызының жоғары және томен экспрессия деңгейлерімен науқастың тірі қалу мүмкіндігінің графигі

Бұл графикте қызыл түспен жоғары экспрессия деңгейі көрсетілген, ал көк түспен төмен экспрессия деңгейі бейнеленген. Графиктен BCL6-ның экспрессиясы жоғары науқастардың тірі қалу мүмкіндігі диагноз қойылғаннан кейін төрт жыл өткенде күрт құлайды, ал тағы біраз уақыттан соң тірі қалу мүмкіндігі мүлдем жоқ.

ВСL6 экспрессиясының жоғарылауымен табысты емдеудің тиімділігі және пациенттің өмір сүруі төмендейді, өйткені бұл ақуыз жасушаның қалыпты жұмыс істеуіне жауап беретін көптеген гендерді блоктайды және керісінше, негізгі онкогендердің экспрессияның жоғарылауына әсер етеді.



**16 сурет** – ВСL6 ақуызының экспрессиясымен басқа негізгі онкогендердің экспрессиясымен басланысы

## ҚОРЫТЫНДЫ

Бұл дипломдық жобада биоинформатика әдістерін қолдану арқылы ми ісігіндегі негізгі гендердің экспрессиясын кешенді бағалау жүргізілді. Зерттеудің негізгі мақсаты глиобластома патогенезіне қатысатын негізгі гендерді анықтау және олардың химиотерапия және сәулелік терапия сияқты дәстүрлі емдеу әдістеріне төзімділігін анықтау болды.

GEO дерекқорынан алынған деректер әртүрлі siRNA-мен трансфекцияланған U87 глиобластома жасушаларының үлгілерін қоса алғанда, талдау үшін пайдаланылды. Үлгілер екі топқа бөлінді: бақылау, онда BCL6 экспрессиясы басылған және эксперименттік, спецификалық емес siRNA қолданылған. Деректерді талдау GEO2R құралы арқылы жүргізілді, ол осы топтар арасындағы гендердің экспрессиясында елеулі айырмашылықтарды анықтады.

Зерттеу нәтижелері BCL6-ның басылуы жасуша пролиферациясымен, апоптозбен, миграциямен және инвазиямен байланысты 7 геннің (TMEM167a, MGMT1, IL1B, CERK, ACLY, DUSP6, ARPP19) экспрессиясында елеулі өзгерістерге әкелетінін көрсетті. BCL6 жоғары экспрессиясы ісік жасушаларының емдеуге төзімділігінің жоғарылауымен байланысты болды, бұл оның глиобластоманың агрессивті қасиеттерін сақтаудағы маңызды рөлін көрсетеді. Дифференциалды экспрессиялық талдау BCL6 төмендетілген ретте жоғары реттелетін және төмендетілген гендерді анықтады, бұл оның әртүрлі жасушалық процестерге кең әсерін көрсетеді.

Вулканоплот және басқа бейнелеу әдістері ген экспрессиясындағы байқалған айырмашылықтардың маңыздылығын растады, әрі қарай зерттеу үшін әлеуетті терапиялық мақсаттарды белгіледі. Экспрессияда елеулі өзгерістерді көрсеткен гендер глиобластомасы бар науқастардың нәтижелерін жақсартуға бағытталған жаңа терапиялық стратегияларды әзірлеуге негіз бола алады.

Осы зерттеу ми ісігі контекстінде ген экспрессиясын талдау үшін биоинформатика әдістерін қолданудың тиімділігін көрсетеді. Бұл әдістерді қолдану глиобластоманың негізінде жатқан молекулярлық механизмдерді тереңірек түсінуге және мақсатты терапияның ықтимал мақсаттарын анықтауға мүмкіндік берді.

## ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

1. Schaff LR, Mellinghoff IK. Glioblastoma and Other Primary Brain Malignancies in Adults: A Review. *JAMA*. – 2023. – Vol. 329, No 7. –P. 574–587.
2. Agrawal A. (Eds.). (2022). *Brain Tumors*. InTech.
3. Casjens S, Brüning T, Taeger D. Cancer risks of firefighters: a systematic review and meta-analysis of secular trends and region-specific differences. *International Archive Occupational Environment Health*. – 2020. – Vol. 93.– P. 839–852.
4. Рыскельдиев Н.А, Жетписбаев Б.Б, Мустафин Х.А, Тельтаев Д.К, Доскалиев А.Ж, Нұрақай Н.А, Бердибаева Д.Т, Нургазина Г.К, Амирбек А.Н. Совершенствование управления медицинской помощи больным с глиобластомами головного мозга. *Журнал «Нейрохирургия и неврология Казахстана»*. – 2020. – Vol. 4, No 61.
5. Alemany M, Velasco R, Simó M, Bruna J. Late effects of cancer treatment: consequences for long-term brain cancer survivors. *Neuro-Oncology Practice*. – 2021.– Vol. 8, No 1.
6. Гареев И.Ф, Бейлерли О.А, Абдуганиев С.А, Yang G, Zhao S. Циркулирующие микроРНК как биомаркеры при опухолях головного мозга. *Профилактическая медицина*. – 2021. – Vol. 24, No 5. – P.51–59.
7. Gareev I, Beylerli O, Liang Y, Xiang H, Liu C, Xu X, Yuan C, Ahmad A, Yang G. The Role of MicroRNAs in Therapeutic Resistance of Malignant Primary Brain Tumors. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. – 2021. – Vol. 9.
8. Wu Q, Berglund A.E, Etame A.B. The Impact of Epigenetic Modifications on Adaptive Resistance Evolution in Glioblastoma. *Int. J. Mol. Sci*. – 2021. –Vol. 22, No 8324.
9. Mao K, You C, Lei D, Zhang H. Potential regulation of glioma through the induction of apoptosis signaling via Egl-9 family hypoxia-inducible factor 3. *Oncology letters*. – 2017. – Vol. 13, No 2. – P. 893– 897.
10. Кит О.И, Водолажский Д.И, Росторгуев Э.Е, Франциянц Е.М, Панина С.Б. Молекулярно-генетические маркеры глиом. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. – 2017. – Vol. 4. – P.132– 140.
11. Bogdahn U, Hau P, Stockhammer G, Venkataramana NK, Mahapatra AK, Suri AA, Poverenova I. Targeted therapy for high-grade glioma with the TGF- $\beta$ 2 inhibitor trabedersen: results of a randomized and controlled phase IIb study. *Neuro-oncology*. – 2010. – Vol. 13, No 1. – P. 132– 142.

12. Кит О.И, Пушкин А.А, Росторгуев Э.Е, Поркшеян Д.Х, Франциянц Е.М, Кузнецова Н.С, Черкиев И.У, Водолажский Д.И. Изменение экспрессионного статуса генов при малигнизации клеток мозга. *Современные проблемы науки и образования*. – 2018. – Vol. 6.
13. Cao Z, Liao Q, Su M, Huang K, Jin J, Cao D. AKT and ERK dual inhibitors: the way forward? *Cancer Lett.* – 2019. – Vol. 459. – P. 30–40.
14. Kapoor I, Bodo J, Hill BT, Hsi ED, Almasan A. Targeting BCL-2 in B-cell malignancies and overcoming therapeutic resistance. *Cell Death Dis.* – 2020. – Vol. 11, No 941.
15. Dymova M.A, Kuligina E.V, Richter V.A. Molecular Mechanisms of Drug Resistance in Glioblastoma. *International Journal of Molecular Sciences.* – 2021. – Vol. 22, No 12. – P. 6385.
16. Rathi S, Griffith JI, Zhang W, Oh J-H, Talele S, et al. The influence of the blood–brain barrier in the treatment of brain tumours. *J Intern Med.* – 2022. – Vol. 29. – P. 3–30.
17. Ou A, Yung WKA, Majd N. Molecular Mechanisms of Treatment Resistance in Glioblastoma. *International Journal of Molecular Sciences.* – 2021. – Vol. 22, No 1. – P.351.
18. Goenka A, Tiek D, Song X, Huang T, Hu B, Cheng S-Y. The Many Facets of Therapy Resistance and Tumor Recurrence in Glioblastoma. *Cells.* – 2021. – Vol. 10, No 3. – P. 484.
19. Phallen J, Sausen M, Adleff V, Leal A, Hruban C, White J, et al. Direct detection of early-stage cancers using circulating tumor DNA. *Science Translational Medicine.* – 2017. – Vol. 9, No 403.
20. An Y, Fan F, Jiang X, Sun K. Recent Advances in Liquid Biopsy of Brain Cancers. *Frontiers in Genetics.* – 2021. – Vol. 12.
21. Martinez-Ricarte F, Mayor R, Martinez-Saez E, Rubio-Perez C, Pineda E, Cordero E, et al. Molecular diagnosis of diffuse gliomas through sequencing of cell-free circulating tumor DNA from cerebrospinal fluid. *Clin Cancer Res.* – 2018. – Vol. 24. – P. 2812–2819.
22. Zhu L, Nazeri A, Pacia C.P, Yue Y, Chen H. Focused ultrasound for safe and effective release of brain tumor biomarkers into the peripheral circulation. *PLoS One.* – 2020. – Vol. 15.
23. Park J-W, Turcan Ş. Epigenetic Reprogramming for Targeting IDH-Mutant Malignant Gliomas. *Cancers.* – 2019. – Vol. 11, No 10. – P. 1616.

24. Delhomme N, Mähler N, Schiffthaler B, Sundell D, Mannapperuma C, Hvidsten TR, Street NR. Guidelines for RNA-Seq data analysis. *Epigenesys Protoc.* 2014. – Vol. 67. – No 1-738. – P. 24.
25. Ghosh, S., & Chan, C.-K. K. Analysis of RNA-Seq Data Using TopHat and Cufflinks. *Methods in Molecular Biology.* – 2016. – Vol. 1374. – P.339–361.
26. Zhao S, Zhang B, Zhang Y, Gordon W, Du S, Paradis T, Vincent M, von Schack D. Bioinformatics for RNA-seq data analysis. *Bioinformatics—Updated Features and Applications: InTech.* – 2016. – P. 125-49.
27. Dobin A, Gingeras TR. Mapping RNA-seq reads with STAR. *Current protocols in bioinformatics.* – 2015. – Vol. 51, No 1. – P. 11-4.
28. Wen G. A simple process of RNA-sequence analyses by Hisat2, Htseq and DESeq2. In *Proceedings of the 2017 international conference on biomedical engineering and bioinformatics.* – 2017. – P. 11-15.
29. Law, C.W., Chen, Y., Shi, W. et al. voom: precision weights unlock linear model analysis tools for RNA-seq read counts. *Genome Biol.* – 2014. – Vol. 15.
30. Tanya Barrett, Stephen E. Wilhite, Pierre Ledoux, Carlos Evangelista, Irene F. Kim, Maxim Tomashevsky, Kimberly A. Marshall, Katherine H. Phillippy, Patti M. Sherman, Michelle Holko, Andrey Yefanov, Hyeseung Lee, Naigong Zhang, Cynthia L. Robertson, Nadezhda Serova, Sean Davis, Alexandra Soboleva, NCBI GEO: archive for functional genomics data sets—update, *Nucleic Acids Research.* – 2012. – Vol. 41, No 41. – P. D991–D995.
31. James H Joly, William E Lowry, Nicholas A Graham, Differential Gene Set Enrichment Analysis: a statistical approach to quantify the relative enrichment of two gene sets, *Bioinformatics.* – 2020. – Vol. 36, No 21. – P. 5247–5254.
32. Sardu ME, Scie HC. Understanding the ingenuity pathway analysis software for omics research. *Int. J. Nurs.* – 2021. – Vol. 1, No 15. – P. 72.



## РЕЦЕНЗИЯ

Фахардинова Диана, Жылгелді Диас

Дипломдық жобасына

Тақырыбы: «Биоинформатикалық құралдарды пайдалана отырып ми қатерлі ісігіндегі негізгі гендердің экспрессиясын бағалау»

Орындалды :

- а) графикалық бөлімі 12 парақ
- б) түсіндірме жазбасы 37 бетте

### ЖҰМЫСҚА ЕСКЕРТУЛЕР

Дипломдық жоба биоинформатика әдістерін қолдану арқылы ми қатерлі ісігіндегі негізгі гендердің экспрессиясын зерттеуге арналған. Жұмыстың ғылыми маңыздылығы мен өзектілігі жоғары, өйткені глиобластома пациенттер үшін өте төмен болжаммен бас миының қатерлі ісігінің ең агрессивті түрлерінің бірі болып табылады. Ісік жасушаларының дәстүрлі емдеу әдістеріне жоғары төзімділігін ескере отырып, жаңа терапиялық мақсаттар мен емдеу стратегияларын іздеу өте маңызды. Зерттеу әдістері егжей-тегжейлі сипатталған және негізделген. Дифференциалды экспрессиялық талдау үшін GEO дерекқорын және GEO2R құралын пайдалану ген экспрессиясын зерттеудің заманауи және тиімді тәсілі болып табылады. U87 жасуша желілерін трансфекциялау әдістері, деректерді талдау және нәтижелерді визуализациялау анық және анық сипатталған. Зерттеу нәтижелері көрнекі графиктер мен диаграммалар түрінде берілген, бұл оларды қабылдауды және түсіндіруді жеңілдетеді. Автор алынған деректерді сауатты талдайды, BCL6 басылған кезде олардың экспрессиясын өзгертетін негізгі гендерді бөлектейді. Нәтижелерді талқылау жүргізілген талдаудың тереңдігін көрсететін әдебиет деректерімен расталады.

### Жұмыс бағасы

Фахардинова Диана мен Жылгелді Диас дипломдық жобасын практикалық маңызы бар жұмыс деп есептеймін. Жоба барысында қойылған мақсаты мен міндеттері орындалып тұр. Стандарттан ауытқулар жоқ. Суреттер мен кестелер сапалы түрде алынған. Зерттеу жұмысының қорытындысы ғылыми тұрғыда ауқымды дәлелдемелерге негізделген. Фахардинова Диана мен Жылгелді Диас дипломдық жобасы талаптарға сай орындалды, зерттеу тақырыбы бойынша қорғауға және 98 – «өте жақсы» деген бағаға лайық деп ойлаймын

### Рецензент

Әл-Фараби атындағы ҚазҰУ биотехнология, биохимия, өсімдіктер физиологиясы кафедрасының доценті, биология ғылымдарының кандидаты  
Асрандина Салтанат Шынтайқызы

«07» маусым 2024 ж.



Фахардинова Диана, Жылгелді Диас дипломдық жұмысына

## ҒЫЛЫМИ ЖЕТЕКШІНІҢ ПІКІРІ

Химиялық және биохимиялық инженерия

Тақырыбы: «Биоинформатикалық құралдарды пайдалана отырып ми қатерлі ісігіндегі негізгі гендердің экспрессиясын бағалау»

6B05101–«Химиялық және биохимиялық инженерия» мамандығының 4 курс студенттері Фахардинова Диана Шамилқызы мен Жылгелді Диас Ардашерұлы «Биоинформатикалық құралдарды пайдалана отырып ми қатерлі ісігіндегі негізгі гендердің экспрессиясын бағалау» тақырыбындағы дипломдық жобасында биоинформатика әдістерін қолдану арқылы ми ісігіндегі негізгі гендердің экспрессиясын кешенді бағалау жүргізген. Зерттеудің негізгі мақсаты глиобластома патогенезіне қатысатын негізгі гендерді анықтау және олардың химиотерапия және сәулелік терапия сияқты дәстүрлі емдеу әдістеріне төзімділігін анықтаған.

Зерттеу жұмысының мақсаты: Биоинформатикалық құралдарды пайдалана отырып ми қатерлі ісігіндегі негізгі гендердің экспрессиясын бағалауды негіздеп орнықты түрде сипаттап көрсетті.

GEO дерекқорынан алынған деректер әртүрлі siRNA-мен трансфекцияланған U87 глиобластома жасушаларының үлгілерін қоса алғанда, талдау үшін пайдаланылды. Үлгілер екі топқа бөлінді: бақылау, онда BCL6 экспрессиясы басылған және эксперименттік, спецификалық емес siRNA қолданылған. Деректерді талдау GEO2R құралы арқылы жүргізілді, ол осы топтар арасындағы гендердің экспрессиясында елеулі айырмашылықтарды анықтады.

Зерттеу нәтижелері BCL6-ның басылуы жасуша пролиферациясымен, апоптозбен, миграциямен және инвазиямен байланысты 7 геннің (TMEM167a, MGMT1, IL1B, CERK, ACLY, DUSP6, ARPP19) экспрессиясында елеулі өзгерістерге әкелетінін көрсетті. BCL6 жоғары экспрессиясы ісік жасушаларының емдеуге төзімділігінің жоғарылауымен байланысты болды, бұл оның глиобластоманың агрессивті қасиеттерін сақтаудағы маңызды рөлін көрсетеді. Дифференциалды экспрессиялық талдау BCL6 төмендетілген ретте жоғары реттелетін және төмендетілген гендерді анықтады, бұл оның әртүрлі жасушалық процестерге кең әсерін көрсетті.

Зерттеу жұмысының өзектілігі жаңа терапевтік мақсаттарды іздеу және глиобластоманы емдеудің тиімдірек стратегияларын әзірлеу қажеттілігіне байланысты. Нәтижелер ісік өсуінің негізгі реттеушілерін басу және ми ісігінің осы агрессивті түрімен ауыратын науқастарды емдеу нәтижелерін жақсартуға бағытталған инновациялық терапевтік тәсілдерді одан әрі зерттеу және дамыту үшін негіз бола алатынын көрсетті.

Фахардинова Диана Шамилқызы мен Жылгелді Диас Ардашерұлы дипломдық жобасы талаптарға сай және нәтижелі орындалғанына көз жеткізе отырып, зерттеу тақырыбы бойынша қорғауға лайықты және 97-«өте жақсы» деген пікірдемін.

**Научный руководитель**

Ботбаев Д.М.



«07» маусым 2024 ж.



## Метаданные

Название

**Биоинформатикалық құралдарды пайдалана отырып ми қатерлі ісiгiндегi негiзгi гeндeрдiң експрессиясын бағалау**

Автор

**Фахардинова Диана, Жылгелді Диас**

Научный руководитель / Эксперт

**Даурен Ботбаев**

Подразделение

**ИГИНГД**

## Тревога

В этом разделе вы найдете информацию, касающуюся текстовых искажений. Эти искажения в тексте могут говорить о ВОЗМОЖНЫХ манипуляциях в тексте. Искажения в тексте могут носить преднамеренный характер, но чаще, характер технических ошибок при конвертации документа и его сохранении, поэтому мы рекомендуем вам подходить к анализу этого модуля со всей долей ответственности. В случае возникновения вопросов, просим обращаться в нашу службу поддержки.

Замена букв		2
Интервалы		0
Микропробелы		4
Белые знаки		0
Парафразы (SmartMarks)		5

## Объем найденных подоби

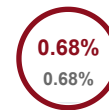
КП-ия определяют, какой процент текста по отношению к общему объему текста был найден в различных источниках.. Обратите внимание!Высокие значения коэффициентов не означают плагиат. Отчет должен быть проанализирован экспертом.

**25**

Длина фразы для коэффициента подобия 2

**7786**

Количество слов

**60817**

Количество символов

## Подобия по списку источников

Ниже представлен список источников. В этом списке представлены источники из различных баз данных. Цвет текста означает в каком источнике он был найден. Эти источники и значения Коэффициента Подобия не отражают прямого плагиата. Необходимо открыть каждый источник и проанализировать содержание и правильность оформления источника.

### 10 самых длинных фраз

Цвет текста

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ И АДРЕС ИСТОЧНИКА URL (НАЗВАНИЕ БАЗЫ)	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)	
1	Органикалық қалдықтарды өңдеу және биогаз өндіру кезіндегі метаногенез процестерін математикалық жоспарлау және оңтайландыру.docx 5/26/2023 Satbayev University (ИГИНГД)	27	0.35 %
2	Valeriia_Vasalatii_TVTV_(M.Küttim).pdf 2/14/2024 Estonian Academic Database (Estonian University)	12	0.15 %

3	Органикалық қалдықтарды өңдеу және биогаз өндіру кезіндегі метаногенез процестерін математикалық жоспарлау және оңтайландыру.docx 5/26/2023 Satbayev University (ИГИНГД)	10	0.13 %
---	--	----	--------

из базы данных RefBooks (0.00 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
------------------	----------	---

из домашней базы данных (0.48 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)	
1	Органикалық қалдықтарды өңдеу және биогаз өндіру кезіндегі метаногенез процестерін математикалық жоспарлау және оңтайландыру.docx 5/26/2023 Satbayev University (ИГИНГД)	37 (2)	0.48 %

из программы обмена базами данных (0.15 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)	
1	Valeria_Vasalatii_TVTVB_(M.Küttim).pdf 2/14/2024 Estonian Academic Database (Estonian University)	12 (1)	0.15 %

из интернета (0.00 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	ИСТОЧНИК URL	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
------------------	--------------	---

Список принятых фрагментов (нет принятых фрагментов)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	СОДЕРЖАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
------------------	------------	---