

# İKİ FARKLI MEME KANSERİ HÜCRE HATTINDA FLORESAN İŞARETLİ MAACKIA AMURENSIS-LEKTİN-1 VE WHEAT GERM AGLUTİNİNİN HÜCRE YÜZEY GLİKAN PROFİLLERİNDEKİ FARKLI ETKİLERİ

EFFECTS OF FLUORESCENT MARKED MAACKIA AMURENSIS-LECTIN-1 AND WHEAT GERM AGLUTININ ON THE CELL SURFACE GLYCAN PROFILES IN TWO DIFFERENT BREAST CANCER CELL LINES

Günnur DEMİRCAN<sup>1</sup> , Yosun MATER<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>İstanbul Bilim Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

<sup>2</sup>Gebze Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul, Türkiye

**ORCID IDs of the authors:** G.D. 0000-0001-7355-9065; Y.M. 0000-0002-7161-0637

**Cite this article as:** Demircan G, Mater Y. Effects of fluorescent marked maackia amurensis-lectin-1 and wheat germ agglutinin on the cell surface glycan profiles in two different breast cancer cell lines. J Ist Faculty Med 2019;82(2):89-95. doi: 10.26650/IUITFD.429263

## ÖZET

**Amaç:** Meme kanseri teşhisinde patolojik tetkikler gibi birçok yöntem kullanılmaktadır. Tüm bu tetkiklerin ve yöntemlerin yanı sıra, kanser araştırmalarında glikobiyolojinin de önemi oldukça artmıştır. ER (+) özellik gösteren MCF-7 ve ER (-) özellik gösteren MDA-MB-231 meme kanseri hücre hatlarının zar yüzeylerinde görülen şeker rezidüleri miktar farklılıkları FITC-(*Maackia Amurensis-Lectin-1*) Ve FITC-(Wheat Germ Agglutinin) ile spesifik olarak işaretlenmiş ve ışımaya yoğunluğu göreceli olarak irdelenmiştir. Bu yöntem ile meme kanseri hücre soylarının membranlarında bulunan sialik asit birimlerindeki farklılıkları iki saat gibi kısa bir zamanda, hassas olarak ayrılabilirliğinin açıkça ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmamızda MCF-7 ve MDA-MB-231 hücre soyları kullanılmıştır. Çalışmada kullanılması planlanan floresan işaretli lektinler [FITC-(*Maackia Amurensis-Lectin-1*) Ve FITC-(Wheat Germ Agglutinin)] ilgili firmalardan satın alınmış ve kullanım protokolüne uygun olarak hazırlanıp işaretlemeler yapılmıştır.

**Bulgular:** MCF-7 ve MDA-MB-231 meme kanseri hücre hatlarına FITC işaretli *Maackia amurensis* lektini-1 uygulanmıştır. Buna göre; MDA-MB-231 hücre hattı MCF-7'a göre göreceli olarak daha yoğun bir ışımaya göstermiştir. Aynı kanser hücre hatlarına FITC işaretli Wheat Germ Agglutinin uygulanmıştır. Bu işaretleme sonucunda da her iki kanser hattında da benzer yoğunlukta ışımaya tespit edilmiştir.

**Sonuç:** Çalışmada kullanılan MCF-7 ve MDA-MB-231 hücre hat-

## ABSTRACT

**Objective:** Many methods such as pathological examinations are used to diagnose breast cancer. In addition to all these tests and methods, the use of glycobiology has also increased significantly in cancer research. Differences in sugar residues observed on the membrane surfaces of breast cancer cell lines ER (+) -creating MCF-7 and ER (-) MDA-MB-231 were specifically marked with FITC-(*Maackia Amurensis-Lectin-1*) Ve FITC-(Wheat Germ Agglutinin) The intensity of radiation is discussed relatively. The aim of using this method is to clearly reveal that the differences in the sialic acid units in the membranes of breast cancer cell lines can be precisely separated in as little as two hours.

**Material and Method:** MCF-7 and MDA-MB-231 ) cells were used in our study. [FITC-(*Maackia Amurensis-Lectin-1*) Ve FITC-(Wheat Germ Agglutinin)] were purchased from the respective companies. Following this step, the FITC marked products were prepared and marked according to usage protocols.

**Results:** FITC-labeled *Maackia amurensis* Lectin-1 was applied to MCF-7 and MDA-MB-231 breast cancer cell lines. Subsequently, the MDA-MB-231 cell line showed a relatively more intense radiation than the MCF-7. The FITC marked Wheat germ agglutinin was applied to the same cancer cell lines. As a result of this marking, radiation of similar intensity was detected in both cancer lines.

**Conclusion:** These differences seen in the membranes of the

**İletişim kurulacak yazar/Corresponding author:** gunnurbio@yahoo.com

**Geliş tarihi/Received Date:** 31.05.2018 • **Kabul tarihi/Accepted Date:** 21.03.2019

©Telif Hakkı 2019 J Ist Faculty Med - Makale metnine jmed.istanbul.edu.tr web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2019 by J Ist Faculty Med - Available online at jmed.istanbul.edu.tr

larının membranların da görülen bu farklılıklar önemli bulunmuştur. Hücrelere uygulanan iki saatlik boyama yöntemi ile iki farklı meme kanseri hücre tipi hızlı bir şekilde ayrılmıştır. Aynı zamanda immünofloresan işaretli lektinler yardımıyla, glikokonjugatların, hızlı ve özgün ayırma kullanılabilirliği gösterilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Meme kanseri, lektin, glikolizasyon

MCF-7 and MDA-MB-231 cell lines used in the study are significant. Two different types of breast cancer cell types were rapidly separated using the two hour staining method applied to the cells. At the same time, with the help of immunofluorescent-labeled lectins, the availability of glycoconjugates was demonstrated for rapid and specific discrimination.

**Keywords:** Breast Cancer, lectin, glycolization

## GİRİŞ

Kanser, hasarlı hücrelerin vücudun herhangi bir yerinde kontrol dışı çoğalıp, o bölgenin de dışına yayılmasından ileri gelen hastalıkların genel adıdır. İstatistiklere göre, yaşayan her beş kişiden bir tanesi yaşantısının bir döneminde kanser ile karşı karşıya gelmiştir. İlerleyen tıp ve uygulanan tüm yeni tedavi yaklaşımlarına karşın halen kanserden ölümler gelişmiş toplumlarda ikinci sırada yer almaktadır (6).

Dünyanın hemen her bölgesinde meme kanseri önemli bir sağlık sorunudur. Kadınlar arasında en sık görülen kanser türüdür. Akciğer kanserinden sonra kansere bağlı ölümlerde ikinci sırada yer almaktadır (23). Yaklaşık her 10 kadından birinin yaşam boyunca bu hastalığa yakalanma riskinin ve yakalananların üçte birinin de yaşamlarını bu hastalık nedeniyle kaybetme risklerinin olduğu bildirilmektedir (5). Bu son derece önemli sağlık sorununa çözüm bulmak birçok araştırmacı için ilk hedef olmuştur.

Meme kanserine yakalanma riski yaşın ilerlemesine bağlı olarak artmaktadır ancak bu artış menopoz sonrasında yavaşlamaktadır. Bu, meme kanserinin hormon bağımlı bir hastalık olduğunu ve post-menopoz evresindeki kadınlarda östrojen ve özellikle progesteron konsantrasyonlarında azalma olduğu ortaya çıkarmaktadır (11).

Meme kanseri oluşumunda birçok risk faktörü tanımlanmıştır. Risk faktörleri arasında genetik faktörler meme kanseri oluşumunda önemli bir yere sahiptir.

İnsan meme kanserlerinin yaklaşık olarak %40'ı p53 mutasyonlarından kaynaklanmaktadır. Bunun dışında en yaygın kalıtsal meme kanseri genleri BRCA1 ve BRCA2'dir. Bu genler DNA zincir kırıklarının tamirinde görev alırlar (11).

Ancak bu genlerde bozukluk veya mutasyonlar olursa meme kanseri riskinde artış meydana gelir. Anormal BRCA1 ve BRCA2 genleri tüm meme kanserlerinin yaklaşık %10'undan sorumludur (8).

Östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörü (PR) ve insan epidermal büyüme faktörü reseptörü-2 (human epidermal growth factor receptor-2- [HER-2]) hem prognostik hem de prediktif değer taşır. Son yıllarda biyolojik ve moleküler faktörlerin, prognostik ve prediktif açıdan önemi artmaktadır (9).

ER hastalığının etiolojisinde en önemli rolü oynamaktadır.

Risk faktörlerinin pek çoğu doğrudan veya dolaylı olarak östrojen etkisine sahiptir. Meme kanserinde ER ve HER-2 uygun tedavinin seçilmesinde önemli rol oynar (15). ER parafin kesitlerde immünohistokimyasal olarak değerlendirilir (24).

Patolojik tetkikler, kanserin teşhisi için altın standarttır. Bu tetkiklerin, kanserin etiolojisinin patogenezinde, hastalığın klinik olarak korelasyon ve belirtilerinin belirlenmesinde önemli rolü vardır. En yeni moleküler teknolojiler, özellikle high-throughput teknolojiler, meme kanserinin morfolojik olarak benzer alt tiplerinin bile moleküler heterojenite gösterebildiğini tespit edebilmektedir. Örneğin, infiltrate duktal karsinomanın en azından 4 moleküler alt tipe ayrıldığı tespit edilebilmiştir. Bu alt tipler; luminal (ER+, PR+, Her-2/neu-), Her-2 overexpressing (ER-, PR-, Her-2+), Bazal benzeri (ER+, PR-, Her-2-, CK5/6+, EGFR+), normal meme benzeri (ER-, PR-, Her-2-) olarak belirtilmiştir. Her bir tipin farklı klinik sonuçları bulunmaktadır. Bu alt tiplerde çoğalan (proliferatif) gen ekspresyonu çok pahalı moleküler testler olan Ki67, Her-2, PR ve ER'i içeren immünohistokimyasal markerlarla belirlenir (2).

Tüm bu tetkiklerin ve yöntemlerin yanı sıra, son yıllarda, kanser araştırmalarında glikobiyolojinin de önemi oldukça artmıştır. Glikolizasyon, çeşitli fizyopatolojik süreçleri kontrol edebilen bir anahtar düzenleyici mekanizma olarak hareket edebilir. İnsanlarda glikolizasyondaki bozukluklar hastalıklara yol açabilir. İnsanlarda bulunan glikom önemli miktarda biyolojik bilgi içermektedir (20).

Glikozilasyon en önemli ve yaygın post translasyonel modifikasyonlardan bir tanesidir. İnsan proteinlerinin %50'den fazlasının glikolize olduğu bilinmektedir. Glikolizasyon, protein stabilizasyonu, doku yapılarını koruma, hücre-hücre adezyonu ve hücre-matriks eki gibi birçok fizyolojik fonksiyon ve biyolojik yolakta yer alır (18).

N-bağlı veya O-bağlı glikolizasyon protein glikolizasyonunun tipleridir. İnflamatuvar deri hastalıkları, diabetes mellitus, kardiyovasküler hastalıklar, romatoid artrit, Alzheimer, prion hastalıkları ve kanser gibi birçok hastalıkta anormal glikozilasyon gözlemlenmiştir (13).

Lektinler, belirli bir tür glikana özgül afiniteye sahip olan glikoproteinlerdir. Lektin afinitesi zenginleşmesi, lektinlerin özel bir glikan kalıntısı veya bağlantı tipine özgüllüğünü kullanan başlıca tekniklerden biridir. Şu anda yaygın olarak kullanılan iki glikoprotein / glikopeptid zenginleş-

tirme tekniği olarak kabul edilmektedir. Örneğin, Wheat Germ Agglutinin (WGA), esas olarak bir glikan yapısında olan N-Asetil Glikozamin (GlcNAc) residüleri ile etkileşir.

Kanser hücre yüzeylerinde yer alan zengin glikan yapısının da onlara spesifik olarak bağlanabilen lektinler yardımıyla gösterilmesi mümkündür. Bununla birlikte, çok çeşitli glikanları yakalamak ve zenginleştirmek için bir multilektin karışımı kullanılmıştır. Akciğer, meme ve karaciğer de dahil olmak üzere farklı kanser tipleri ile ilişkili glikoproteomik değişiklikleri incelemek için etkili bir şekilde lektin zenginleştirme tekniği kullanılmıştır (25).

Yang ve ark. duktal karsinoma in situ (DCIS) ve invaziv meme kanseri (IBC) tanısı koyulan hastaların kan serumundaki glikoproteinlerdeki değişiklikleri değerlendirmek için lektin zenginleştirme tekniğini kullanmışlardır. Mannoz, Galaktoz ve GlcNAc / sialik asit residülerini yakalamak için concavalin A (ConA), Jacalin (AIL) ve WGA kullanılarak multilektin afinite zenginleştirme uygulamışlardır (30).

Whelan ve ark. hidrazid kimya temelli zenginleştirme kullanarak, üç meme kanseri hücre hattından N-bağlı membran glikoproteomikleri çalışmasını bildirmişlerdir. Kullanılan hücre soylarından MCF-7, ER ve PR (+) ve Her-2 (-), MDA-MB-453, ER ve PR (-) ve Her-2 (+) ve MDA-MB-468, ER ve PR ve Her-2 (-) (üçlü negatif) özellikleri taşımaktadır (29).

Yapılan çalışmada, ER (+) olan MCF-7 ve ER (-) olan MDA-MB-231 meme kanser hücre hatlarını oluşturan hücrelere, hücre zar yüzeylerinde yer alan bir tür galaktoz (Gal $\beta$ 4GlcNAc) şekerine özgün olarak bağlanabilen floresan (FITC) işaretli *Maackia amurensis* lektin-1 (FITC-[MAL-I]) ve bazı sialik asit tiplerine (GlcNAc, Neu5Ac) ve özellikle  $\beta$  tipi N-Asetil Glikozamin ( $\beta$ -GlcNAc) sialik asit şekerine özgün olarak bağlanabilen floresan işaretli Wheat Germ Agglutinin (FITC-*Triticum vulgare* [WGA]) uygulanmıştır.

Böylece ER (+) ve ER (-) özelliklere sahip adı geçen kanser hücre hatlarının zar yüzeylerinde görülen şeker residüleri

miktar farklılıkları FITC-[MAL-I] ve FITC-[WGA] ile spesifik olarak işaretlenmiş ve ışığa yoğunluğu göreceli olarak iridelenmiştir.

Bu amaçla çalışmamızda MCF-7 ve MDA-MB-231, ER (+) ve ER (-) kanser hücre hatlarına FITC-[MAL-I] uygulanarak, kanser hücre yüzeylerindeki Gal $\beta$ 4GlcNAc tipi glikan birimlerine spesifik bağlanma özelliği sayesinde bu birimler görülür hale getirilmiştir. Aynı uygulama FITC-[WGA] kullanılarak, sialik asit (GlcNAc, Neu5Ac) birimleri ve özellikle  $\beta$ -GlcNAc tipi sialik asit içeren glikan birimlerine spesifik bağlanma özelliği sayesinde görülür hale getirilmiştir.

Bu yöntem ile meme kanseri hücre soylarının membranlarında bulunan sialik asit birimlerindeki farklılıkların iki saat gibi kısa bir zamanda, hassas olarak ayrılabilmesinin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

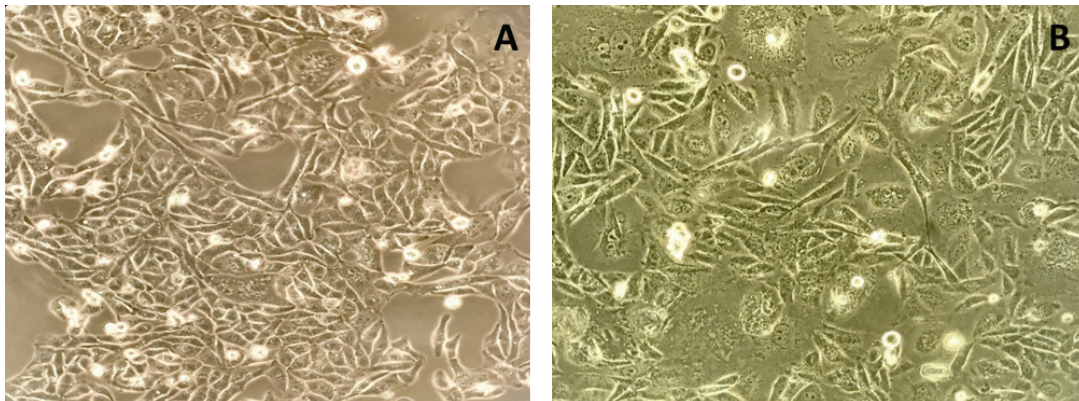
### Deneyde Kullanılacak Hücrelerin Eldesi ve Hazırlanması

Çalışmamızda ATCC'den temin edilen MCF-7 (ATCC® HTB-22™) ve MDA-MB-231 (ATCC® HTB-26™) hücre soyları kullanılmıştır.

Hücreler, içerisinde inaktive edilmiş %10 fetal sıçır serumu (FCS), 0,2 mM glutamin, 100  $\mu$ g/ml streptomisin 100 IU/ml penisilin içeren DMEM-F12 Ham medyumunda (Dulbecco'nun Modifiye edilmiş Eagle Medyumu, besleyici karışım F12 Ham medyumu) 37°C'de, %5 CO<sub>2</sub> ve 1 atmosfer basınç altında kültüre edilmiştir.

DMEM-F12 Ham medyumu ticari olarak kullanıma hazır şekilde satın alınmıştır. Hücreler rutin olarak haftada iki kez pasajlanmıştır. Hücreler, yoğunluk olarak flaskın yarı yüzeyini kapladıklarında deneylerde kullanılmıştır.

Çalışmada kullanılması planlanan floresan (Fluorescein, FITC) işaretli *Maackia amurensis* lektini-1 (*Maackia amurensis* lectin-1 [MAL-I], FL-1311 Vector Laboratories, Bur-

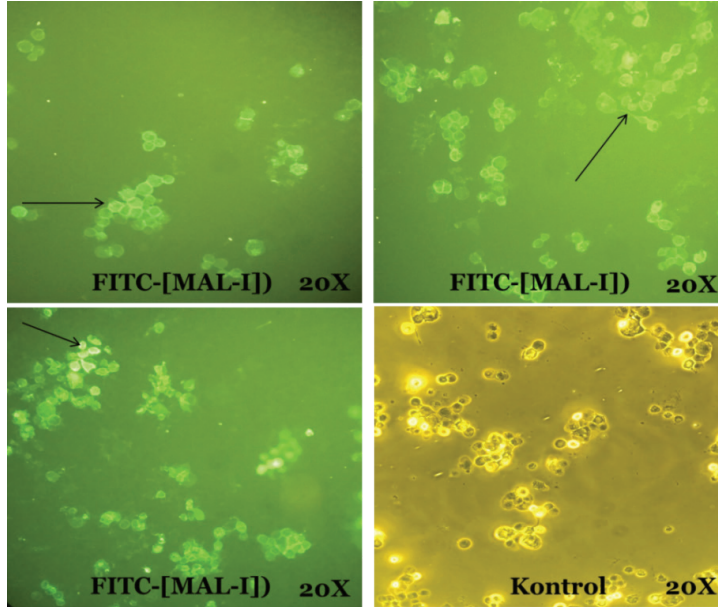


**Şekil 1:** Meme kanseri hücre hatları ışık mikroskobu görüntüleri (20X) A-MCF-7 hücre hattı B- MDA-MB-231 hücre hattı Floresan İşaretleme Prosedürü.

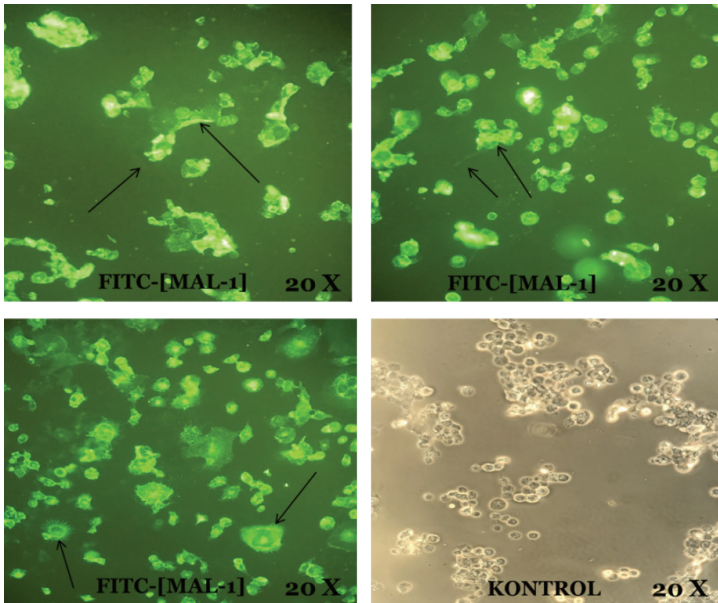
lingame, CA, USA) ve floresan işaretli Wheat Germ Aglutinin (*Triticum vulgare* [WGA] FL-1021 Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA) ilgili firmalardan satın alınmıştır. Bu basamağı takiben FITC işaretli ürünler kullanım protokolüne uygun olarak hazırlanmış ve işaretlemeler yapılmıştır.

İşaretleme sürecinde medyumları üzerlerinden alınan hücreler PBS ile yıkanmıştır. Ardından, BSA içeren PBS ile yıkama yapılmıştır. Yıkama işlemlerinden sonra FITC işaretli lektinler ile uygun sürede inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda FITC içeren lektinler hücrelerin

üzerinden uzaklaştırılmış, Tween 20'li PBS ile yıkama gerçekleştirilmiştir. Sonraki adımda yıkama solüsyonu uzaklaştırılmış ve hücreler bir müddet kurumaya bırakılmıştır. Kurumayı takiben üzerlerine DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindol) içeren özel kapatıcı solüsyonu (Fluoroshield Mounting Medium with DAPI, ab 104139, Abcam) damlatılmıştır. Örnekler, Nikon Eclipse 80i Floresan Mikroskobu ile incelenmiş, DAPI ve FITC filtreleri kullanılarak fotoğraflanmıştır. Elde edilen mikrograflar aynı makinede yer alan, NIS Elements BR 3.0 programı ile görüntülenmiştir.



Şekil 2: MCF-7 hücre hattında FITC-MAL-I.



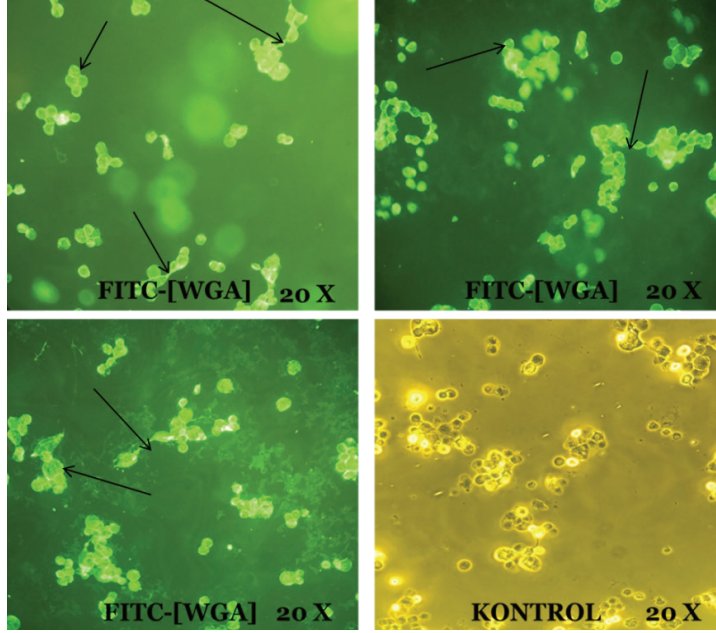
Şekil 3: MDA-MB-231 hücre hattında FITC-MAL-I.

## BULGULAR

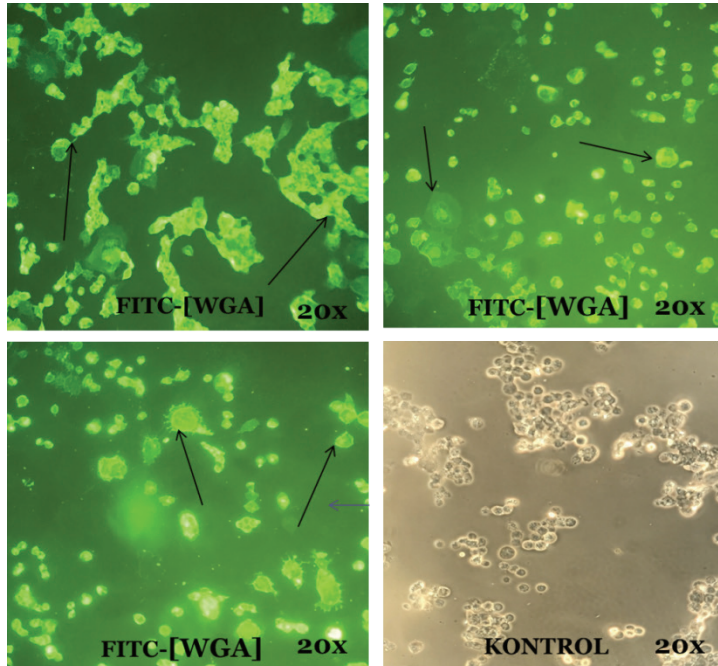
Çalışmada kullanılan MCF-7 ve MDA-MB-231 meme kanseri hücre hatları (Şekil 1) üzerine ilk olarak FITC-MAL-I uygulanmıştır. Bu lektin hücre zar yüzeylerinde yer alan galaktoz içeren bir tür sialik asit olan Gal $\beta$ 4GlcNAc şekerini özgün işaretlemiştir. Buna göre; MDA-MB-231 kanser hücre hattı MCF-7'a göre

göreceli olarak daha yoğun bir ışıma göstermiştir (Şekil 2 ve 3).

Çalışmanın ikinci kısmında aynı tür kanser hücre hatları üzerine GlcNAc, Neu5Ac yapısında sialik asit tiplerini özgün olarak işaretleyen FITC-WGA uygulanmıştır. Bu işaretleme sonucunda da her iki kanser hattında yoğun ışıma tespit edilmiştir (Şekil 4 ve 5).



Şekil 4: MCF-7 hücre hattında FITC-WGA.



Şekil 5: MDA-MB-231 hücre hattında FITC-WGA.

## TARTIŞMA

Dünya genelinde kadınlar arasında en yaygın kanser türü meme kanseri olarak bilinir (10). Meme kanseri dünyadaki kanser vakalarının yaklaşık %23'ünü oluşturur (12). Kanser oluşumunda çeşitli faktörler rol alır. Bu faktörler tümör oluşum tipine ve yerine bağlı olarak çeşitli semptomlara yol açabilir. Bu yüzden, kanser tedavisi, erken evrede tanı, etkin tedavi prosedürleri ve kanserin tekrar oluşmasını önlemek için tedavi sonrası bakım gerektirmektedir. Meme kanseri tanı teknikleri arasında mamografi, biyopsi, MRI, sonografi, moleküler meme görüntüleme, termografi vb. yer alır. Bunlar oldukça etkili yöntemlerdir ve kadınlarda meme kanserinin %80-90'ını tespit edebilmektedir (14).

Bunların dışında, enzim bağlantılı immünosorbent testi (ELISA), radioimmunoassay (RIA) ve immünohistokimya (IHC) gibi biyobelirteç temelli ekspresyon teknikleri de mevcut tanı gereksinimlerini karşılamaktadır. Tüm bu teknikler verimli olsa da, yine de bazı sınırlamaları vardır (16).

Tüm hücrelerde olduğu gibi kanser hücrelerinde de, yüzey reseptör proteinleri, mutasyona uğramış genler, mikroRNA'lar vb. gibi, tümör hücrelerinin yüzeyinde veya içinde değişken olarak eksprese edilen biyomoleküller bulunur. Bu moleküller kanser ilerlemesinin göstergesi olan belirteçler olarak kabul edilirler. Biyolojik olarak bu moleküller, biyobelirteçler olarak adlandırılır. Kanser hastalarına özgün biyobelirteçlerin tanıda kullanılabilmesi için noninvaziv bir prosedürle hastaların fizyolojik sıvılarından kolayca elde edilebilir olması ve sağlıklı kişilerde bulunmaması beklenmektedir. Bu nedenle potansiyel hedef belirteçler olarak biyosensörler yardımıyla kanser teşhisi büyük ölçüde araştırılmış ve ayrıntılı bir şekilde tartışılmıştır (4, 27, 28).

Bir tür biyobelirteç olarak glikoproteinler, Her-2, Mucin1 (MUC1), karsinoembriyonik antijen (CEA), epitelyal hücre adezyon molekülü (EpcAM), epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) gibi yüzey bağlı glikoprotein reseptörlerini oluştururlar. Reseptörler üzerindeki kontrol kaybolduğunda, MAPK ve PI3K / Akt yollarını değiştiren (21) ve metastazı indükleyen büyüme faktörlerinin üretilmesiyle kanser hücresi proliferasyonuna aracılık ederler (19). Çeşitli glikoproteinler arasında Her-2 ve MUC1, meme kanserinin saptanmasında en yaygın olarak kabul edilen tanı ve prognostik biyobelirteçlerdir. Her-2, bir proto-onkogen kodlayan trans-membran glikoproteindir (M. Wt-185 kDa). Meme kanseri tanısı için uygun bir biyobelirteç olan Her-2'nin %20-30 meme kanseri olgusunda aşırı ekspresyonu saptanmıştır (1).

Hastalık tanı ve teşhisinde hücre hatları laboratuvar çalışmalarının birçok alanında vazgeçilmezdir. Özellikle kanser araştırmalarında in vitro model olarak kullanılırlar (17). Meme kanseri araştırmalarında en yaygın olarak kullanılan meme kanseri hücre hatları, MCF-7 (26), ve MDA-MB-231'dir (3). Her ikisi de metastatik meme karsinomu

hastalarının plevral efüzyonlarından türetilmiştir. MCF-7 hücre hattı, meme hücrelerinin luminal epitelyal fenotipinin işaretleyicilerini ifade eder ve ER (+) tümörler için bir model olarak kullanılır (7). MDA-MB-231 hücre hattı, epitel işaretleyicileri ifade etmez fakat mezenkimal fenotipin bir belirteci olan yüksek düzeyde vimentin içerir. MDA-MB-231 hücre hattı ER (-) ve Her-2 / neu-negatif meme kanseri için bir model olarak kullanılır (22).

Çalışmada ER (+) olan MCF-7 ve ER (-) olan MDA-MB-231 meme kanser hücre hatları kullanılmıştır. Bilinen konvansiyonel meme kanseri teşhis metodlarından daha ucuz ve 2 saat gibi kısa zamanda yanıt veren yöntemimizin temeli lektinlerin hücre yüzeyinde bulunan şeker rezidülerine özgün bağlanabilme özelliğine dayanmaktadır.

Bu çalışmada geliştirilen işaretleme yöntemi ile hücre yüzeyinde bulunan, yaygın sialik asit birimleri (GlcNAc, Neu-5Ac) ve daha nadir bulunan  $\beta$  bağlı galaktoz birimler içeren sialik asitler floresan işaretli WGA ve MAL lektinleri yardımı ile özgün olarak işaretlenmiş ve sonuçları irdelenmiştir.

Çalışmadan elde edilen bulgulara göre hem FITC-[MAL-I] hem de FITC-[WGA], ER (+) olan MCF-7 ve ER (-) olan MDA-MB 231 hücre hatlarının membranlarında görülen iki farklı sialik asit tipini özgün olarak işaretlemiştir. Ancak mikrograflarda görülen rezidülerin miktar farklılıkları bize FITC-[MAL-I]'ın ER (-) özellikteki MDA-MB-231 hücrelerinde  $\beta$  bağlı, galaktoz şekeri de içeren sialik asit tipini (Gal $\beta$ 4GlcNAc), daha yoğun işaretlediğini göstermiştir. Bu sonuçlarda  $\beta$  bağlı, galaktoz şekeri de içeren sialik asit tipinin MDA-MB-231 hücre hattında daha yoğun bulunduğunu göstermektedir. Her iki hücre hattının membranlarında görülen bu farklılık iki saatlik bir boyama yöntemi ile iki hücre tipinin hızlı bir şekilde ayrılmasında kullanılabilir.

## SONUÇ

Yapılan çalışmada, immüno floresan işaretli lektinler ve şeker rezidüleri yardımıyla, glikokonjugatların hızlı ve özgün ayırma kullanılabilişliği gösterilmiştir. Devam eden çalışmalarımızla bu yöntemin iyileştirilmesi ve daha da geliştirilerek, meme kanseri hücre hatlarında, hasta örneklerinde, hastalığın erken teşhisinde, patolojik bulgulara destek ve/veya alternatif bir yöntem olarak tercih edilebilirliğinin artırılmasına amaçlanmaktadır.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Çalışma Konsepti/Tasarım- G.D., Y.M.; Veri Toplama- G.D., Y.M.; Veri Analizi/Yorumlama- G.D., Y.M.; Yazı Taslağı- G.D., Y.M.; İçeriğin Eleştirel İncelemesi- G.D., Y.M.; Son Onay ve Sorumluluk- G.D., Y.M.; Malzeme ve Teknik Destek- G.D., Y.M.; Süpervizyon- G.D., Y.M.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir.

**Finansal Destek:** Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP) tarafından desteklenmiştir (Proje kodu: 35553).

**Peer Review:** Externally peer-reviewed.

**Author Contributions:** Conception/Design of Study- G.D., Y.M.; Data Acquisition- G.D., Y.M.; Data Analysis/Interpretation- G.D., Y.M.; Drafting Manuscript- G.D., Y.M.; Critical Revision of Manuscript- G.D., Y.M.; Final Approval and Accountability- G.D., Y.M.; Technical or Material Support- G.D., Y.M.; Supervision- G.D., Y.M.

**Conflict of Interest:** Authors declared no conflict of interest.

**Financial Disclosure:** This study was supported by Istanbul University Scientific Research Projects Unit (BAP) (Project code: 35553).

## KAYNAKLAR

1. Al-Khafaji QAM, Harris M, Tombelli S, Laschi S, Turner A, Mascini M, et al. An electrochemical immunoassay for HER2 detection. *Electroanalysis* 2012;(24)4:735-42. [CrossRef]
2. Anthony S, Leong Y, Zhuang Z. The changing role of pathology in breast cancer diagnosis and treatment. *Pathobiology* 2011;78:99-114. [CrossRef]
3. Cailleau R, Young R, Olive M, Reeves WJ Jr. Breast tumor cell lines from pleural effusions. *J Natl Cancer Inst* 1974;53:661-74. [CrossRef]
4. Diaconu I, Cristea C, Harceago V, Marazza G, Berindan-Neagoe I, Sandulescu R. Electrochemical immunosensors in breast and ovarian cancer. *Clin Chim Acta* 2013;425:128-38. [CrossRef]
5. Gölbaşı Z, Çetin R, Kalkan S, Durmuş T. Üniversite öğrencisi kızların meme kanseri ve kendi kendine meme muayenesi ile ilgili bilgi ve davranışları. *Eur J Breast Health* 2010;6:69-73.
6. Gürel DK. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Erişkin Onkoloji, Hematoloji Kliniklerinde Kemoterapi Uygulanan Hastaların Yaşam Kalitesi Ve Bunu Etkileyen Faktörlerin İncelenmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Hemşirelik Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. Adana: Çukurova Üniversitesi. 2007.
7. Horie K, Urano T, Ikeda K, Inoue S: Estrogen-Responsive RING Finger Protein Controls Breast Cancer Growth. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2003;85:101-4. [CrossRef]
8. Karakuş E. Östrojen-Bağımlı Meme Kanseri Ve Sodyum-Bağımlı Organik Anyon Taşıyıcı. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi* 2010;5:155-66.
9. Koçer M. Meme Kanseri Evreleme, Prognostik ve Prediktif Faktörler. *Türkiye Klinikleri J Med Oncol-Special Topics* 2012;5(2):20-7.
10. Lee JH, Lee HJ, Sim DY, Jung JH, Kim KR, Kim SH. Apoptotic effect of lambertianic acid through AMPK/FOXO1 signaling in MDA-MB231 breast cancer cells. *Phytother Res* 2018;1-9. [CrossRef]
11. Libson S, Lippman M. A review of clinical aspects of breast cancer. *Int Rev Psychiatry* 2014;26(1):4-15. [CrossRef]
12. Mahfoud OK, Rakovich TY, Prina-Mello A, Movia D, Alves F, Volkov Y. Detection of ErbB2: Nanotechnological solutions for clinical diagnostics. *RSC Adv* 2014;4(7):3422-42. [CrossRef]
13. Mechref Y, Hu Y, Garcia A, Hussein A. Identifying cancer biomarkers by mass spectrometry-based glycomics. *Electrophoresis* 2012;33(12):1755-67. [CrossRef]
14. Michaelson J, Satija S, Moore R, Weber G, Halpern E, Garland A, et al. The pattern of breast cancer screening utilization and its consequences. *Cancer* 2002;94 (1):37-43. [CrossRef]
15. Mirtavoos-Mahyari H, Khosravi A, Esfahani-Monfared Z. Human epidermal growth factor receptor 2 and estrogen receptor status in respect to tumor characteristics in nonmetastatic breast cancer. *Tanaffos* 2014;13(1):26-34.
16. Mittal S, Gautam N, Mantha AK. Biosensors For Breast Cancer Diagnosis: A Review Of Bioreceptors, Biotransducers And Signal Amplification Strategies. *Biosens Bioelectron* 2017;15:88:217-31. [CrossRef]
17. Mladkova J, Sanda M, Matouskova E, Selicharova I. Phenotyping Breast Cancer Cell Lines EM-G3, HCC1937, MCF7 and MDA-MB-231 Using 2-D Electrophoresis And Affinity Chromatography For Glutathione-Binding Proteins. *BMC Cancer* 2010;10:449. [CrossRef]
18. Moremen KW, Tiemeyer M, Nairn AV. Vertebrate Protein Glycosylation: Diversity, Synthesis And Function. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2012;13(7):448-62. [CrossRef]
19. Nath S, Mukherjee P. MUC1: a multifaceted oncoprotein with a key role in cancer progression. *Trends Mol Med* 2014;20:6:332-42. [CrossRef]
20. Pinho SS, Reis CA. Glycolysation in cancer: mechanism and clinical implications. *Nat Rev Cancer* 2015;15:540-55. [CrossRef]
21. Raina D, Kharbanda S, Kufe D. The MUC1 oncoprotein activates the anti-apoptotic phosphoinositide 3-kinase/Akt and Bcl-xL pathways in rat 3Y1 fibroblasts. *J Biol Chem* 2004;279:20:20607-12. [CrossRef]
22. Rochefort H, Glondou M, Sahla ME, Platet N, Garcia M. How to target estrogen receptor-negative breast cancer? *Endocr Relat Cancer* 2003;10:261-6. [CrossRef]
23. Saip P, Keskin S, Özkan M, Kaplan MA, Aydoğan F, Demirağ GG, et al. Türkiye'de meme kanserli hastaların tanı ve tedavi yöntemlerine ulaşım hızı; çok merkezli gözlemsel çalışma. *Eur J Breast Health* 2011;7:109-117.
24. Shah R, Rosso K, Nathanson SD. Pathogenesis, prevention, diagnosis and treatment of breast cancer. *World J Clin Oncol* 2014;5(3):283-98. [CrossRef]
25. Song E, Mechref Y. Defining glycoprotein cancer biomarkers by MS in conjunction with glycoprotein enrichment. *Biomark Med* 2015;9(9):835-44. [CrossRef]
26. Soule HD, Vazquez J, Long A, Albert S, Brennan MA. Human Cell Line From A Pleural Effusion Derived From A Breast Carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1973;51:1409-16. [CrossRef]
27. Tohill EI. Biosensors For Cancer Markers Diagnosis. *Semin Cell Dev Biol* 2009;20:55-62. [CrossRef]
28. Vidi PA, Bissell MJ, Lelièvre SA. Three-dimensional culture of human breast epithelial cells: the how and the why. *Methods Mol Biol* 2013;945:193-219. [CrossRef]
29. Whelan SA, Lu M, He J. Mass spectrometry (LC-MS/MS) site-mapping of N-glycosylated membrane proteins for breast cancer biomarkers. *J Proteome Res* 2009;8(8):4151-60. [CrossRef]
30. Yang Z, Harris LE, Palmer-Toy DE, Hancock WS. Multielectin affinity chromatography for characterization of multiple glycoprotein biomarker candidates in serum from breast cancer patients. *Clin Chem* 2006;52(10):1897-905. [CrossRef]