



بسمه تعالی
طرح تحقیق پایان نامه کارشناسی ارشد

کد ملی :

نام و نام خانوادگی دانشجو	شماره دانشجویی	دانشکده	بخش/گروه	امضا دانشجو

مشخصات اساتید راهنما و مشاور	نام و نام خانوادگی	رتبه دانشگاهی	محل خدمت	امضا و تاریخ
استاد راهنمای اصلی				
استاد راهنمای دوم (در صورت نیاز)				
درصد سهیم استاد راهنمای دوم:				
استاد مشاور (در صورت نیاز)				

عنوان:
شناسایی امضاهای جهشی در تومورهای سرطانی فردی
Title: Identifying mutational signatures in individual cancer tumours

تعریف مساله، اهداف، و سوالات تحقیق:

پیشرفت‌های اخیر در فن‌آوری‌های توالی‌یابی DNA با کارایی بالا^۱، مطالعاتی را امکان‌پذیر کرده است که هزاران ژنوم یا اگزوم سرطان کامل^۲ را بررسی می‌کند. توالی‌یابی کل ژنوم^۳، جامعه ژنومیک سرطان را وارد قلمرو جدیدی کرده است. سرطان یک بیماری ژنومی است که در آن تکثیر کلونال^۴ کنترل نشده توسط تغییرات ژنومی در سلول‌های پیکری^۵ شروع و تقویت می‌شود (1). علیرغم این واقعیت که یک ژنوم سرطان ممکن است بین ده‌ها تا میلیون‌ها جهش پیکری را حمل کند (2, 3)، تنها زیرمجموعه کوچکی از این جهش‌ها که جهش‌های "محرك"^۶ نامیده می‌شوند، باعث گسترش نئوپلاستیک^۷ می‌شوند (1, 4). عموماً اعتقاد بر این است که مابقی جهش‌ها تحت عنوان جهش‌های "مسافری"^۸، مزیت انتخابی در فرآیندهای دخیل در جهش‌زایی ایجاد نمی‌کنند (5, 6).

¹ high-throughput DNA sequencing technologies

² whole cancer genomes or exomes

³ whole-genome sequencing

⁴ clonal proliferation

⁵ somatic cells

⁶ driver

⁷ neoplastic expansion

⁸ passenger

تجمع جهش‌های محرک در ژنوم سلول پیکری نتیجه یک یا چند فرآیند جهش‌زایی است که به طور مداوم یا متناوب در طول عمر ارگانیسم عمل می‌کند (7). چنین فرآیندهای جهش‌زا، شامل آسیب DNA⁹ توسط ژنوتوکسین عوامل برون زا¹⁰ یا درون زا¹¹، همانندسازی معیوب DNA، مسیرهای ترمیم DNA معیوب، و ویرایش آنزیمی DNA است (8). بسیاری از این فرآیندها الگوی مشخصی از جهش‌ها را در ژنوم نشان می‌دهند که به عنوان "امضای جهشی"¹² شناخته می‌شود (2، 9). مفهوم امضاهای جهشی در سال 2012 به دنبال اثبات این موضوع معرفی شد که تجزیه و تحلیل همه جهش‌های جایگزینی¹³ در مجموعه‌ای از توالی کامل ژنومی سرطان سینه می‌تواند الگوهای ثابت جهش‌زایی در سراسر تومورها که در طول تومورزایی¹⁴ به وجود می‌آیند را نشان دهد (10). اگرچه امضاهای جهشی یک مفهوم نسبتاً جدید در بیولوژی سرطان هستند، اولین توصیفات انحرافات ژنومی¹⁵ ناشی از یک فرآیند خاص به اوایل قرن بیستم باز می‌گردد، زمانی که اشعه ایکس برای ایجاد شکستگی کروموزوم در سلول‌های تحت تابش یافت شد (11-13). سایر پیوندهای علی بین عوامل جهش‌زا و الگوهای تغییرات پیکری نیز ایجاد شده است، مانند جابجایی‌های نوکلئوتیدی که توسط مواد سرطان‌زا¹⁶ موجود در دود تنباکو ایجاد می‌شوند (14، 15). علاوه بر این، برخی از عوامل شیمی درمانی¹⁷ نیز جهش‌زا هستند و ممکن است امضای جهشی خود را در ژنوم سرطان بیماران مبتلا به بدخیمی‌های ثانویه¹⁸ نقش کنند (16، 17). این مثال‌ها اهمیت مطالعه الگوهای جهش پیکری را برای درک ما از مکانیسم‌های مولکولی نئوپلازی¹⁹ نشان می‌دهند، که به طور بالقوه امکان کشف جهش‌زاهای جدید را فراهم می‌کند (2، 7، 8، 18).

الگوهای جهش‌های متعدد در ژنوم‌های سرطانی معمولاً روی یکدیگر قرار می‌گیرند و داده‌ها را غیرقابل درک می‌کنند. در سال 2012 L. Alexandrov، راهی برای حل ریاضی این مسئله ارائه کرد و نشان داد که الگوهای جهش از جهش‌زاهای فردی یافت شده در یک تومور را می‌توان با استفاده از یک رویکرد ریاضی به نام جداسازی منبع کور²⁰ از یکدیگر متمایز کرد (10). در سال 2013، تیم وی اولین چارچوب محاسباتی را برای رمزگشایی امضاهای جهشی از داده‌های ژنومیک سرطان منتشر کردند (19). متعاقباً، آنها این چارچوب را برای بیش از هفت هزار ژنوم سرطانی به کار بردند و اولین نقشه جامع از امضاهای جهشی در سرطان انسان را ایجاد کردند (2). در حال حاضر، بیش از صد امضای جهش یافته در فهرست سرطان انسان شناسایی شده است (20-24).

مطالعه این امضاهای جهشی دارای پتانسیل مهمی برای درک بیشتر ما از علل سرطان‌های فردی است و می‌تواند بینش‌های جدیدی در رابطه با پیشگیری و درمان سرطان ارائه دهد. امروزه، آنالیزهای امضای جهشی به یک جزء استاندارد مطالعات ژنومی تبدیل شده‌اند، زیرا می‌توانند منابع محیطی²¹ و درون‌زای جهش‌زایی را در هر تومور نشان دهند. در واقع، این رشته نوپا در جهت‌های محاسباتی، تجربی و بالینی در حال توسعه و گسترش است و به سمت استفاده از روش بالینی معنادار، آگاهی‌رسانی، تلاش‌هایی جهت پیشگیری سرطان، هدایت روش‌های تشخیصی، پیش‌بینی پاسخ به درمان و مداخلات شخصی‌سازی شده سرطان²² پیش می‌رود (16، 25-31).

⁹ DNA damage

¹⁰ exogenous

¹¹ endogenous

¹² mutational signature

¹³ substitution mutations

¹⁴ tumorigenesis

¹⁵ genomic aberrations

¹⁶ carcinogens

¹⁷ chemotherapeutic

¹⁸ secondary malignancies

¹⁹ neoplasia

²⁰ blind source separation

²¹ environmental

²² personalized cancer interventions

برای پزشکان، استفاده از امضاهای جهشی قابل اعتماد برای طبقه‌بندی بالینی بسیار مهم است. در حالی که توسعه روش‌هایی برای کشف امضاهای جهشی به موفقیت قابل توجهی دست یافته است، این هنوز یک زمینه نوظهور است که ناشی از پیشرفت‌های تحلیلی و تکنولوژیکی اخیر است و علیرغم پیشرفت‌ها در این زمینه، منشأ بسیاری از امضاهای جهشی همچنان مبهم است. علاوه بر این، مطالعات و تجزیه و تحلیل‌های جدیدتر، نسخه‌های متعدد و متفاوتی از این امضاها را نسبت به موارد قبلی گزارش کردند (20)، که جامعه را به این سوال سوق می‌دهد که این یافته‌ها که حاصل نتایج ریاضی انتزاعی‌اند تا چه میزان دقیق بوده و بدون تأیید تجربی قابل اعتماد و استناد هستند (32) و آیا می‌توان با استفاده از بهبود الگوریتم‌های موجود، الگوهای امضاهای جهشی را با دقت بالاتری شناسایی کرد؟

پیش فرض ها و فرضیه ها:

مفروضات:

هر تومور سرطانی، حاوی الگوهای ثابت و منحصر به فردی از تغییرات ژنومی، تحت عنوان امضای جهشی است که توسط فرآیندهای جهش‌زایی خاص درون‌زا یا عوامل خارجی مانند اشعه ایکس و مواد سرطان‌زا در طول تومورزایی ایجاد می‌شود.

با توجه به پیشرفت‌های فناوری توالی‌یابی و افزایش داده‌های در دسترس، اطلاعات حاصل از تحلیل امضاهای جهشی می‌تواند به دقت بیشتری در تعیین علت‌ها و مکانیسم‌های مولکولی نئوپلازی در سرطان‌ها کمک کند و به توسعه راهکارهای نوین برای پیشگیری و درمان سرطان منجر شود.

فرضیه‌ها:

تاکنون، منشأ بسیاری از امضاهای جهشی همچنان ناشناخته است و اطلاعات بسیاری از امضاهای جهشی شناسایی شده به وسیله روش‌های محاسباتی هنوز تأیید تجربی نشده‌اند، بنابراین نیاز به تحقیقات بیشتر در این زمینه حائز اهمیت است.

مدل‌های طراحی شده، الگوریتم‌های و راهکارهای نوظهوری که قابلیت شناسایی الگوهای امضاهای جهشی در داده‌های ژنوم تومورها را دارا هستند می‌توانند با استفاده از تکنیک‌های ریاضی مدرن بهبود بیشتری یافته تا به دقت و صحت بالاتری در شناسایی و تحلیل‌های الگوهای جهشی منجر شود.

مواد و روش انجام تحقیق:

امضای جهشی را می‌توان از نظر ریاضی به عنوان رابطه‌ای بین یک فرآیند جهش‌زا (معلوم یا ناشناخته) و مجموعه‌ای از انواع جهش پیکری تعریف کرد. بسیاری از دسته‌های تغییرات ژنومی می‌توانند به عنوان ویژگی‌های^{۲۳} یک امضای جهشی عمل کنند، از جمله جایگزین‌های تک‌نوکلئوتیدی (SBSs) یا دی‌نوکلئوتیدی (DBS)^{۲۴}، درج‌ها و حذف‌های کوچک (این‌دِل‌ها)^{۲۵}، تغییرات تعداد کپی^{۲۶}، بازآرایی‌های ساختاری^{۲۷}، رویدادهای ادغام عناصر قابل انتقال^{۲۸}، هایپرجهش موضعی (کاتائگیس)^{۲۹} و تغییرات اپی ژنتیکی^{۳۰}. با توجه به

²³ features

²⁴ single-nucleotide or dinucleotide substitutions

²⁵ small insertions and deletions (indels)

²⁶ copy number changes

²⁷ structural rearrangements

²⁸ transposable element integration events

²⁹ localized hypermutation (kataegis)

³⁰ epigenetic changes

اینکه بیشتر مطالعات تا به امروز بر روی جایگزینی‌های تک بازی^{۳۱} متمرکز شده است، در عمل تنها تعداد محدودی از ویژگی‌ها را می‌توان در انتزاع ریاضی^{۳۲} یک امضای جهشی گنجانده. با این حال، امضاهای مبتنی بر ایندل (33, 34) یا انواع ساختاری^{۳۳} (30, 33, 34) نیز توصیف شده است اگرچه ما هنوز در مراحل اولیه درک نحوه طبقه‌بندی ایندل‌ها و بازآرایی‌ها هستیم و مدل‌سازی دقیق آن‌ها چالش برانگیزتر است. بنابراین آن‌ها هنوز به طور گسترده مورد استفاده قرار نگرفته‌اند.

هنگامی که کاتالوگ یا ماتریس جهشی (به عنوان مثال تعداد 96 نوع جهش برای جایگزینی‌های تک بازی) یک تومور به دست آید، دو رویکرد برای رمزگشایی مشارکت امضاهای جهشی مختلف در چشم انداز ژنومی تومور دنبال می‌شود. ابتدا کاتالوگ جهشی تومور با کاتالوگ جهشی مرجع یا مجموعه داده مرجع امضاهای جهشی مقایسه می‌گردد. سپس مدل‌سازی امضاهای جهشی می‌تواند با استفاده از روش‌های آماری مانند فاکتورسازی ماتریس غیرمنفی^{۳۴} برای شناسایی فرآیندهای جهش جدید بالقوه صورت گیرد (2). شناسایی سهم امضاهای جهشی متنوع در سرطان‌زایی بینشی در مورد بیولوژی تومور فراهم می‌کند و می‌تواند فرصت‌هایی را برای درمان هدفمند ارائه دهد.

در این مطالعه، تلاش بر این است که با بهره‌گیری از تغییرات در مدل‌های ریاضی و تکنیک‌های محاسباتی مرتبط با شناسایی و آنالیز امضاهای جهشی، دقت را بهبود بخشیده و در زمینه شناسایی امضاهای جهشی در تومورهای سرطانی پیشرفت بیشتری ایجاد کنیم. مقالاتی که مبنای اصلی کار این طرح تحقیقاتی قرار دارد شامل 2 مقاله پایه‌ای در حیطه امضاهای جهشی شامل مقاله چاپ شده توسط L. B. Alexandrov, S. Nik-Zainal و همکارانشان در سال 2012 و 2013 (2, 10)، همچنین 3 مقاله از جدیدترین و پیشرفته‌ترین رویکردهای بکار برده شده در این زمینه در سال‌های اخیر است (21, 35, 36).

جنبه جدید بودن و نوآوری:

زیبایی چارچوب امضای جهشی فقط در الگوریتم‌های ریاضی آن نهفته نیست زیرا این الگوریتم‌ها اغلب به سادگی رویکردهای تجزیه ماتریسی هستند، بلکه به نحوه طبقه‌بندی جهش‌ها قبل از فاکتورسازی^{۳۵} هم مربوط است. جایگزین‌های تک باز، با ترکیب زمینه‌های توالی طرفین هر جایگزین احتمالی طبقه‌بندی می‌شدند، که منجر به یک الگوی 96 کانالی برای SBSs شد (10, 37). امضاهای جایگزین دو بازی^{۳۶} (DBS) توسط 78 کانال تعریف می‌شوند (20, 38) و امضاهای بازآرایی دارای الگوی 32 کانالی است (33). تعداد بیش از حد کانال‌های فاقد اطلاعات مهم قدرت تشخیص امضا را کاهش می‌دهد. برعکس، کانال‌هایی که خیلی کم هستند ممکن است احتمال تشخیص بیولوژیکی جدید را کاهش دهند. از طرفی کانال‌هایی که بیش از حد پیچیده هستند، قابلیت استفاده را کاهش می‌دهند و احتمالاً به امضاهای مختلط^{۳۷} منجر می‌شوند و تفسیر را به چالشی غیرضروری تبدیل می‌کنند.

در این طرح تحقیقاتی، سعی بر این است که با کمک ارائه راهکارهای نوین در طبقه‌بندی جهش‌ها یا مدل‌های ریاضی و تکنیک‌های محاسباتی که اساس آنالیزهای امضای جهشی را تشکیل می‌دهند (21, 35, 36)، جهت ارتقاء دقت تحلیل‌ها و پیشبرد در زمینه شناسایی امضاهای جهشی در تومورهای سرطانی گامی برداشته شود. امید است تا این گام به دستاوردهای معتبری در زمینه تشخیص و درمان سرطان منجر گردد و به بهبود سلامت و کیفیت زندگی بیماران سرطانی کمک کند.

³¹ single-base substitutions

³² mathematical abstraction

³³ structural variants

³⁴ non-negative matrix factorization

³⁵ decomposition

³⁶ Double-base substitution signatures (DBSs)

³⁷ mixed signatures

- .1 Stratton MR, Campbell PJ, Futreal PA. The cancer genome. *Nature*. 2009;458(7239):719-24.
- .2 Alexandrov LB, Nik-Zainal S, Wedge DC, Aparicio SA, Behjati S, Biankin AV, et al. Signatures of mutational processes in human cancer. *Nature*. 2013;500(7463):415-21.
- .3 Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, Zhou S, Diaz Jr LA, Kinzler KW. Cancer genome landscapes. *science*. 2013;339(6127):1546-58.
- .4 Beerenwinkel N, Antal T, Dingli D, Traulsen A, Kinzler KW, Velculescu VE, et al. Genetic progression and the waiting time to cancer. *PLoS computational biology*. 2007;3(11):e225.
- .5 Attolini CSO, Michor F. Evolutionary theory of cancer. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2009;1168(1):23-51.
- .6 Yates LR, Campbell PJ. Evolution of the cancer genome. *Nature Reviews Genetics*. 2012;13(11):795-806.
- .7 Alexandrov LB, Stratton MR. Mutational signatures: the patterns of somatic mutations hidden in cancer genomes. *Current opinion in genetics & development*. 2014;24:52-60.
- .8 Roberts SA, Gordenin DA. Hypermutation in human cancer genomes: footprints and mechanisms. *Nature Reviews Cancer*. 2014;14(12):786-800.
- .9 Pfeifer GP. Environmental exposures and mutational patterns of cancer genomes. *Genome medicine*. 2010;2:1-4.
- .10 Nik-Zainal S, Alexandrov LB, Wedge DC, Van Loo P, Greenman CD, Raine K, et al. Mutational processes molding the genomes of 21 breast cancers. *Cell*. 2012;149(5):979-93.
- .11 MULLER H, editor Further studies on the nature and causes of gene mutations. *Proceedings of the 6th International Congress of Genetics*, 1932; 1932.
- .12 Bauer H, Demerec M, Kaufmann BP. X-ray induced chromosomal alterations in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*. 1938;23(6):610.
- .13 Sax K. Chromosome aberrations induced by X-rays. *Genetics*. 1938;23(5):494.
- .14 Govindan R, Ding L, Griffith M, Subramanian J, Dees ND, Kanchi KL, et al. Genomic landscape of non-small cell lung cancer in smokers and never-smokers. *Cell*. 2012;150(6):1121-34.
- .15 Pfeifer GP, Denissenko MF, Olivier M, Tretyakova N, Hecht SS, Hainaut P. Tobacco smoke carcinogens, DNA damage and p53 mutations in smoking-associated cancers. *Oncogene*. 2002;21(48):7435-51.
- .16 Harris RS. Cancer mutation signatures, DNA damage mechanisms, and potential clinical implications. *Genome medicine*. 2013;5:1-3.
- .17 Hunter C, Smith R, Cahill DP, Stephens P, Stevens C, Teague J, et al. A hypermutation phenotype and somatic MSH6 mutations in recurrent human malignant gliomas after alkylator chemotherapy. *Cancer research*. 2006;66(8):3987-91.
- .18 Helleday T, Eshtad S, Nik-Zainal S. Mechanisms underlying mutational signatures in human cancers. *Nature reviews genetics*. 2014;15(9):585-98.
- .19 Alexandrov LB, Nik-Zainal S, Wedge DC, Campbell PJ, Stratton MR. Deciphering signatures of mutational processes operative in human cancer. *Cell reports*. 2015;9(1):201-59-246:1(3);3
- .20 Alexandrov LB, Kim J, Haradhvala NJ, Huang MN, Tian Ng AW, Wu Y, et al. The repertoire of mutational signatures in human cancer. *Nature*. 2020;578(7793):94-101.
- .21 Islam SA, Díaz-Gay M, Wu Y, Barnes M, Vangara R, Bergstrom EN, et al. Uncovering novel mutational signatures by de novo extraction with SigProfilerExtractor. *Cell Genomics*. 2022;2.(11)
- .22 Degasperis A, Amarante TD, Czarnecki J, Shooter S, Zou X, Glodzik D, et al. A practical framework and online tool for mutational signature analyses show intertissue variation and driver dependencies. *Nature cancer*. 2020;1(2):249-63.
- .23 Ledford H. Trove of tumour genomes offers clues to cancer origins. *Nature*. 2022;604(7907):609.-
- .24 Degasperis A, Zou X, Dias Amarante T, Martinez-Martinez A, Koh GCC, Dias JM, et al. Substitution mutational signatures in whole-genome-sequenced cancers in the UK population. *Science*. 2022;376(6591):abl9283.
- .25 Alexandrov LB, Nik-Zainal S, Siu HC, Leung SY, Stratton MR. A mutational signature in gastric cancer suggests therapeutic strategies. *Nature communications*. 2015;6(1):8683.
- .26 Fox EJ, Salk JJ, Loeb LA. Exploring the implications of distinct mutational signatures and mutation rates in aging and cancer. *Genome medicine*. 2016;8(1):1-3.
- .27 Li X, Wu WK, Xing R, Wong SH, Liu Y, Fang X, et al. Distinct subtypes of gastric cancer defined by molecular characterization include novel mutational signatures with prognostic capability. *Cancer research*. 2016;76(7):1724-32.
- .28 Poon S, Huang M, Choo Y, McPherson J, Yu W, Heng H, et al. Mutation signatures implicate aristolochic acid in bladder cancer development. *Genome Med* 7: 38. 2015.
- .29 Poon SL, McPherson JR, Tan P, Teh BT, Rozen SG. Mutation signatures of carcinogen exposure: genome-wide detection and new opportunities for cancer prevention. *Genome medicine*. 2014;6:1-14.
- .30 Secrier M, Li X, De Silva N, Eldridge MD, Contino G, Bornschein J, et al. Mutational signatures in esophageal adenocarcinoma define etiologically distinct subgroups with therapeutic relevance. *Nature genetics*. 2016;48(10):1131-41.
- .31 Levatić J, Salvadores M, Fuster-Tormo F, Supek F. Mutational signatures are markers of drug sensitivity of cancer cells. *Nature communications*. 2022;13(1):2926.

- .32 Koh G, Degasperi A, Zou X, Momen S, Nik-Zainal S. Mutational signatures: emerging concepts, caveats and clinical applications. *Nature reviews cancer*. 2021;21(10):619-37.
- .33 Nik-Zainal S, Davies H, Staaf J, Ramakrishna M, Glodzik D, Zou X, et al. Landscape of somatic mutations in 560 breast cancer whole-genome sequences. *Nature*. 2016;534(7605):47-54.
- .34 Morganella S, Alexandrov LB, Glodzik D, Zou X, Davies H, Staaf J, et al. The topography of mutational processes in breast cancer genomes. *Nature communications*. 2016;7(1):11383.
- .35 Díaz-Gay M, Vangara R, Barnes M, Wang X, Islam SA, Vermes I, et al. Assigning mutational signatures to individual samples and individual somatic mutations with SigProfilerAssignment. *Bioinformatics*. 2023;39(12):btad756.
- .36 Jin H, Gulhan DC, Geiger B, Ben-Isvy D, Geng D ,Ljungstrom V, et al. Accurate and sensitive mutational signature analysis with MuSiCal. *bioRxiv*. 2022:2022.04. 21.489082.
- .37 Koh G, Zou X, Nik-Zainal S. Mutational signatures: experimental design and analytical framework. *Genome biology*. 2020;21:1-13.
- .38 Kucab JE, Zou X, Morganella S, Joel M, Nanda AS, Nagy E, et al. A compendium of mutational signatures of environmental agents. *Cell*. 2019;177(4):821-36. e16.

عنوان مصوب:

Approved title:

کمیته تخصصی گروه

نام و نام خانوادگی	عنوان	رتبه علمی	رای	امضا

توضیحات

--

امضای مدیر گروه
تاریخ

تکمیل این قسمت اجباری می باشد موضوع پایان نامه طبق لیست پیوست جزء بخش دوم گروه
..... بند اولویتهای تحقیقاتی طبق بخشنامه شماره 30/51682 مورخ 89/7/6
و 30/51185 مورخ 89/7/5 می باشد:
عنوان اولویت:

تاریخ تصویب در شورای پژوهشی
دانشکده/گروه تخصصی:

تکمیل این قسمت اجباری می باشد.موضوع پایان نامه طبق لیست پیوست جزء بخش دوم گروه
..... بند اولویتهای تحقیقاتی طبق بخشنامه شماره 30/51682 مورخ
89/7/6 و 30/51185 مورخ 89/7/5 می باشد:
عنوان اولویت:

امضاء رئیس شورا/مدیر گروه