

فصل ۱

روش‌های پیشین

۱.۱ مقدمه

در فصل گذشته به معرفی مفاهیم و موضوعات مرتبط با این حوزه پرداخته شد. در ادامه در این فصل با توجه به اطلاعاتی که کسب کرده‌اید به معرفی و بررسی روش‌هایی که مرتبط با موضوع این پایان‌نامه است پرداخته خواهد شد و نتایج آن‌ها را برای فرض‌های و داده‌های ورودی خود مشاهده خواهیم نمود. در این بین تا جایی که ممکن باشد به بررسی نقاط قوت و ضعف آن‌ها نیز خواهیم پرداخت و در انتهای این فصل یک جدول مقایسه بین روش‌هایی که تا به حال معرفی شده‌اند را ارائه خواهیم داد.

۲.۱ مدل کیم و سایمون [۱۳]

این مدل در سال ۲۰۱۴ با تمرکز بر ساخت درخت فیلوژنی^۱ از طریق رابطه ترکیبی میان جهش‌های ایجاد شده در داده‌های توالی‌یابی تک‌سلولی دی‌ان‌ای^۲ ارائه گردید. بررسی رابطه‌ی ترتیبی هر یک از جهش‌های رخ داده با یکدیگر، این امکان را فراهم می‌آورد تا اطلاعاتی در مورد نحوه تشکیل کلون‌ها و ترتیب زمانی رخ دادن جهش‌های گوناگون بدست آید. همچنین امکان محاسبه نسبت زمانی سپری شده میان جهش‌های اولیه موجود در داده‌های

^۱Phylogeny tree

^۲DNA

جدول ۱.۱: مثالی از چند نمونه با بررسی وجود یا عدم وجود دو جهش X و Y .

Sample	1	2	3	4	5	6	7
X mutation	0	0	0	0	1	1	0
Y mutation	0	0	1	1	1	1	1

توالی‌یابی تک‌سلولی تا نزدیک‌ترین جد مشترک وجود دارد. استنباط درخت فیلوژنی از طریق لگوریتیم کیم و سایمون، بر مبنای منطق بیزی است، یعنی از این منطق به منظور تعیین رابطه ترتیبی بین هر دو جهش گوناگون استفاده شده است. در ادامه مقدار بیشینه درست‌نمایی^۳ درخت استنباط شده بر مبنای احتمال ترتیبی دوبه‌دوی بین هر دو جهش مختلف در دو جایگاه از یک دنباله، که از طریق ژنولوژی متفاوت با جهش‌های گوناگون در گره‌های درخت به هم مرتبط می‌شوند، محاسبه می‌شود. سرانجام مقادیر بیشینه‌ی احتمالات با شرط کمینه کردن میزان تفاوت با داده‌های مشاهده شده محاسبه می‌گردد.

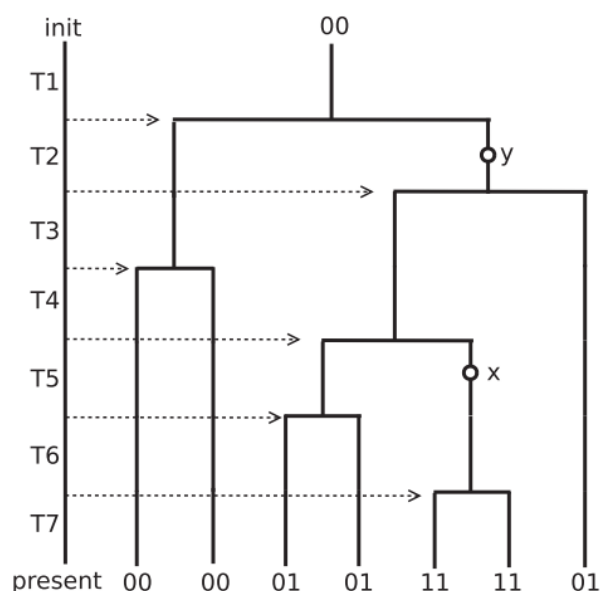
از نکات قوت این الگوریتیم در نظر گرفتن خطای توالی‌یابی و ترک آلل^۴ است. این عدم قطعیت در داده‌ها از طریق محاسبه بیشینه درست‌نمایی ترتیبی هر یک از جهش‌ها بدست خواهد آمد. به عنوان مثال در نظر بگیرید که هفت زوج مرتب از جهش‌های یک دی‌ان‌ای موجود است. برای سادگی بیشتر مولفه اول را با X و مولفه دوم را با Y نشان داده می‌شود. داده‌های نمونه‌گیری شده از این دی‌ان‌ای در جدول ۱.۱ نشان داده شده است. در این جدول صفر بیانگر عدم وجود جهش و یک بیانگر وجود جهش است. تعداد رخداد جهش‌ها با فرض عدم وجود خطا در توالی‌یابی داده‌ها، برابر یک در نظر گرفته می‌شود، یعنی در هر موقعیت تنها یکبار جهش رخ داده است. همچنین ترتیب زمانی رخداد جهش‌ها یک ترتیب جزئی است، به این معنی که زوج $(۱,۱)$ بیانگر این است که یا جهش X مقدم بوده است یا جهش Y . زوج $(۰,۱)$ بیانگر آن است که جهش X وجود نداشته است ولی جهش Y وجود داشته و با فرض اینکه هیچ جهشی از بین نمی‌رود، در نتیجه می‌توان استنباط کرد که Y نسبت به X قدیمی‌تر است و به عنوان یکی از اجداد X در درخت فیلوژنی تومور قرار می‌گیرد. در نتیجه با استفاده از جدول داده‌های نمونه‌برداری شده، استنباط یک رابطه زمانی میان جهش‌های صورت گرفته امکان پذیر است.

شکل ۱.۱ یک درخت فیلوژنیک تومور را نشان می‌دهد که از داده‌های جدول بالا استنباط شده است. در این همه هفت نمونه به عنوان برگ‌های درخت مشاهده می‌شود و ریشه درخت زوج $(۰,۰)$ می‌باشد به این معنی که در ابتدا

^۳Maximum-likelihood

^۴Allele dropout

هیچ جهشی رخ نداده است. محور عمودی بیانگر سیر زمانی تکامل تومور است که به تعداد نمونه‌ها تقسیم شده است. برای استنباط درخت فیلوژنی تومور، الگوریتم کیم و سایمون از سه بخش اصلی تشکیل شده است. طبق



شکل ۱.۱: نمایی از یک درخت فیلوژنیک تومور

قضیه بیز برای محاسبه هر یک از این سه احتمال به مقادیر درست‌نمایی^۵ نیاز داریم. مقدار احتمال رخداد طبق رابطه زیر محاسبه می‌گردد:

$$P(x \sim y|D) \propto L(x \sim y)P(x \sim y), \quad L(x \sim y) = P(D|x \sim y) \quad (۱.۱)$$

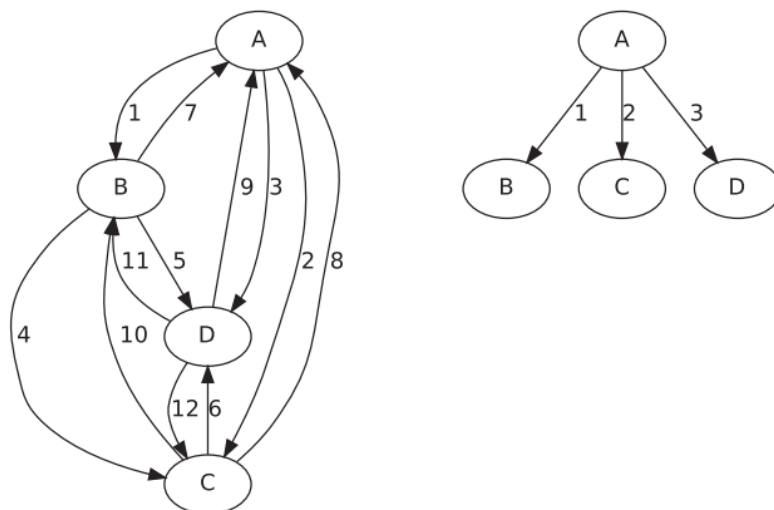
طبق این رابطه و با توجه به اینکه رابطه زمانی میان جهش‌های x و y دارای ۳ حالت،

$$x \rightarrow y, \quad y \rightarrow x \quad \text{و} \quad x \not\rightarrow y$$

است، مقدار احتمال محاسبه شده از رابطه فوق به ازای یکی از این سه حالت بیشینه است و به ازای آن حالت یک مسیر جهت‌دار در درخت فیلوژنی قرار خواهد گرفت. طبق آنچه گفته شد یک گراف جهت‌دار فیلوژنی بلقوه مشابه آنچه در شکل ۲.۱ نشان داده شده است استنباط خواهد شد. در نهایت از این گراف جهت‌دار، یک درخت

^۵Likelihood

به طوری که روابط میان جهش‌ها از آن استنباط شود ساخته خواهد شد. در ابتدا یال‌های گراف از طریق رابطه‌ای



شکل ۲.۱: یک گراف جهت دار فیلوژنی

که در ادامه آمده است وزن‌دهی می‌شوند،

$$w_{x \sim y} = -\log P(x \sim y | D) \quad (2.1)$$

که در آن $(x \sim y)$ رابطه بین جهش‌های x و y است و D نمونه یا سмпل‌های موجود در داده است. بهترین درخت \hat{T} از طریق کمینه‌کردن وزن‌های گراف بدست می‌آید.

$$\hat{T} = \arg \min \left(\sum_{x \sim y \in T} w_{x \sim y} \right) = \arg \max \left(\prod_{x \sim y \in T} P(x \sim y | D) \right) \quad (3.1)$$

در شکل ۲.۱ محتمل‌ترین درخت فیلوژنی با بیشینه درست‌نمایی بر اساس اطلاعات نمونه‌برداری شده بدست می‌آید. در این شکل گراف اولیه و درخت متناظر آن مشاهده می‌شود. مجموع همه وزن‌ها در درخت نهایی با شرط کمینه‌سازی برابر هفت است که این مقدار کمترین مقدار ممکن است.

۱.۲.۱ پایگاه داده

در این مقاله از پایگاه داده تولی‌یابی تک سلولی هو و همکاران [۱۰] استفاده شده است. این مجموع داده از توالی‌یابی تک سلولی دی‌ان‌ای نمونه‌های توموری یک نوع خاص از سرطان خون^۶ جمع‌آوری شده است. این مجموعه داده شامل ۵۸ سلول منفرد و ۱۸ نوع جهش یکتا است. اطلاعات کامل در مورد این پایگاه داده از جمله، نام و نوع جهش‌های موجود در دیتابیس، نوع روش نمونه‌برداری و اطلاعاتی دیگر در پایگاه داده COSMIC در درس عموم قرار دارد. ماتریس ژنوتایپی این پایگاه داده شامل سه مقدار صفر، یک و دو می‌باشد که در آن صفر بیانگر عدم وجود جهش، یک بیانگر جهش هتروزیگوت و دو نمایانگر جهش هموزیگوت است. یکی از معایب این پایگاه داده نرخ بالای خطای توالی‌یابی تک سلولی و بالا بودن نرخ داده‌های از دست رفته (در حدود ۴۵ درصد کل داده‌ها) می‌باشد. همین امر سبب می‌شود تنوع درخت فیلوژنی نسبت داده شده به این پایگاه داده زیاد باشد. در واقع با در نظر گرفتن حالت‌های مختلف روابط دوبه‌دوی جهش‌های گوناگون، می‌توان درخت‌های جهشی متنوعی از داده‌ها استنباط کرد.

۲.۲.۱ معیار ارزیابی

ارزیابی درخت‌های جهشی گوناگون از طریق روش LOOCV^۷ صورت می‌گیرد. این روش همانند روش ارزیابی‌های متقابل^۸ با K قسمت می‌باشد با این تفاوت که در آن k برابر تعداد جهش‌ها (تعداد ستون‌های ماتریس ژنوتایپ) می‌باشد. در هر یک از درخت‌های استنباط شده، یکبار یک جهش حذف شده و میزان دقت مدل محاسبه می‌گردد. سپس این کار برای همه جهش‌های موجود تکرار می‌شود و در نهایت میانگین دقت مدل در حالت‌های مختلف محاسبه می‌شود و به عنوان دقت نهایی مدل گزارش می‌شود.

^۶Thrombocythemia

^۷Leave one out cross validation

^۸Cross validation

۳.۱ الگوریتم Bitphylogeny [۳۴]

این الگوریتم در سال ۲۰۱۵ ارائه شد و مانند الگوریتم کیم و سایمون از منطق بیزی بهره می‌برد. هدف این الگوریتم در کنار ساخت درخت جهشی تومور، پیدا کردن روابط بین کلون‌های مختلف درون یک تومور است. در داده‌های توالی‌یابی تک‌سلولی، بدلیل کمبود میزان نمونه‌گیری و در نتیجه محتمل بودن عدم حضور گونه‌های ژنومی جهش‌یافته در نمونه‌ها، برای تشخیص ناهمگنی‌های درون توموری باید رویکرد متفاوتی را برگزید. شاید یکی از دلایلی که هنوز از داده‌های توالی‌یابی انبوه^۹ برای استنباط درخت فیلوژنی استفاده می‌شود همین باشد. در هر صورت در این مقاله سعی بر این است تا هر ۲ چالش زیر مورد بررسی قرار گیرد:

- تشخیص زیرنواحی یا کلون‌های درون یک تومور

- کشف روابط تکاملی کلون‌های درون یک تومور با یکدیگر

ماتریس ورودی (ماتریس ژنوتایپی) این الگوریتم تعدادی سطر و ستون است که در آن سطرها بیانگر سلول‌ها و ستونها نمایانگر انواع جهش‌های مختلف است. این ماتریس، یک ماتریس دودویی‌ها^{۱۰} است که در آن بودن درایه i و j بیانگر آن است که در سطر i ام جهشی از نوع j ام وجود ندارد. متعاقباً، اگر مقدار درایه i و j برابر یک باشد در سطر i ام جهشی از نوع j ام وجود دارد.

در این مقاله برای جستجو درختی که بیشترین تطابق با داده‌های ورودی را داشته باشد از الگوریتم زنجیره مارکوف مونت کارلو^{۱۱} استفاده می‌شود. این الگوریتم سلول‌ها با ژنوتایپ مشابه را درون یک گروه قرار می‌دهد و به این گروه‌ها کلون گفته می‌شود. در طی دسته‌بندی سلول‌ها کلون‌هایی ایجاد می‌شود که با احتمال زیاد توموری بوده ولی در نمونه‌گیری از بافت توموری حضور نداشته‌اند. شناسایی این گونه از کلون‌ها با توجه به روند گسترش و تکامل تومور، که به مرور زمان صورت می‌گیرد، امکان‌پذیر است. این الگوریتم قادر است تا یک تخمین زمانی از انتقال جهش از سطوح بالای درخت فیلوژنی به سطوح پایین‌تر را محاسبه کند. در این الگوریتم از داده‌های تغییرات تک نوکلئوتید^{۱۲} استفاده شده است اما این روش این قابلیت را دارد تا بدون در نظر گرفتن فرض مکان‌های بینهایت برای داده‌های متیلاسیون دی‌ان‌ای استفاده شود. از نکات قوت این الگوریتم می‌توان به محاسبه رخداد

^۹Bulk sequencing

^{۱۰}Binary

^{۱۱}Markov Chain Monte Carlo (MCMC)

^{۱۲}Nucleotid

هر جهش در درخت فیلوژنی تومور اشاره کرد اما این مقدار احتمال بدلیل تعداد بالای داده‌های از دست رفته و نرخ بالای خطای مثبت کاذب^{۱۳} و منفی کاذب^{۱۴}، بیش از مقدار واقعی است.

شایان ذکر است که این الگوریتم محدودیت‌های خاص خود را دارد. به عنوان مثال، در نظر گرفتن فرض مکان‌های بینهایت برای رخداد جهش‌ها و زمان محاسباتی بسیار بالا الگوریتم زنجیره مارکوف مونت کارلو برای استنباط درخت فیلوژنی از جمله این محدودیت‌ها می‌باشد. از دیگر محدودیت‌های این الگوریتم می‌توان به عدم تشخیص کلون‌های هموزیگوتی و هتروژنی در یک نوع جهش از یکدیگر اشاره کرد. منظور از کلون‌های هموزیگوتی در یک جهش معین آن است که اجزای تشکیل دهنده آن با توزیع یکنواخت در کنار یکدیگر قرار گرفته‌اند و این بدان معناست که احتمال رخداد هر جهش در این توده برابر با احتمال رخداد دیگر جهش‌هاست. در مقابل، یک توده دارای خاصیت هتروژنی است اگر اجزای تشکیل دهنده آن توزیع غیریکنواخت داشته باشد و به همین امر سبب می‌شود تا بدلیل حضور سلول‌های مختلف با توزیع گوناگون، احتمال رخداد جهش‌های مختلف متفاوت باشد.

۱.۳.۱ پایگاه داده

به منظور ارزیابی مدل استنباط کننده درخت تکاملی تومور، از دو پایگاه داده متفاوت در این مقاله استفاده شده است:

- دادگان مربوط به الگوهای متیلاسیون سرطان روده بزرگ
- دادگان شبیه‌سازی شده مربوط به سرطان خون

۲.۳.۱ معیار ارزیابی

به منظور ارزیابی عملکرد الگوریتم بیت فیلوژنی یک مقایسه بین خروجی این الگوریتم و خروجی‌های الگوریتم‌های خوشه‌بندی k هسته‌ای^{۱۵} و دسته‌بندی سلسله مراتبی^{۱۶} صورت گرفته است. این مقایسه از طریق محاسبه معیار بیشینه عمق درخت تکاملی استنباط شده و مقدار درست‌نمایی صورت گرفته است. نتایج گزارش شده در این

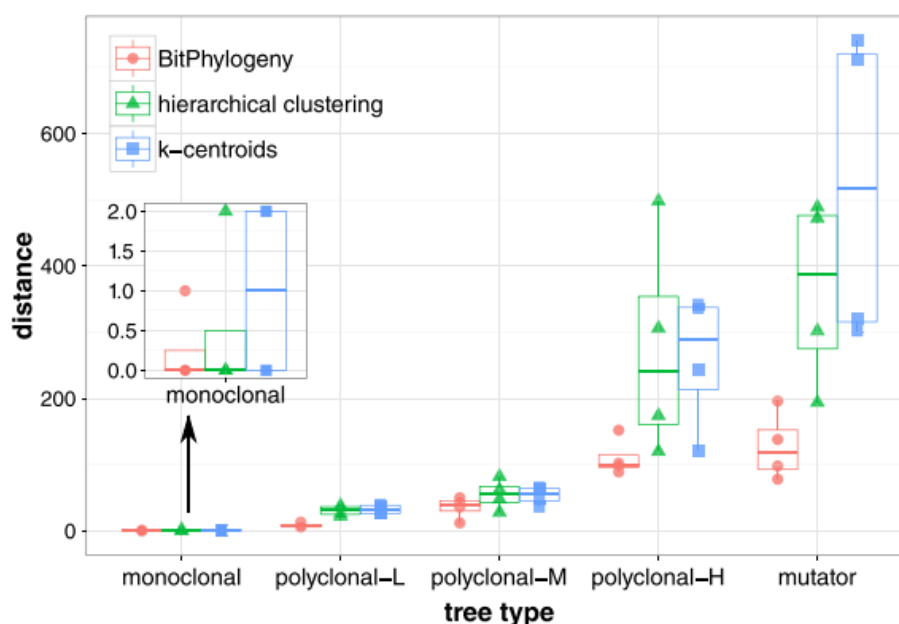
¹³False positive

¹⁴False negative

¹⁵K-Centroids

¹⁶Hierarchical clustering

مقاله گواه از پایداری^{۱۷} و دقت^{۱۸} بسیار بهتر الگوریتم بیت‌فیلوژنی نسبت به دو الگوریتم دیگر است. در شکل ۳.۱ میزان خطای عملکرد الگوریتم بیت‌فیلوژنی نسبت به دو الگوریتم خوشه‌بندی k هسته‌ای و دسته‌بندی سلسله مراتبی در سطوح مختلف درخت در حالت‌های تک‌کلونی و چندکلونی قابل مشاهده است.

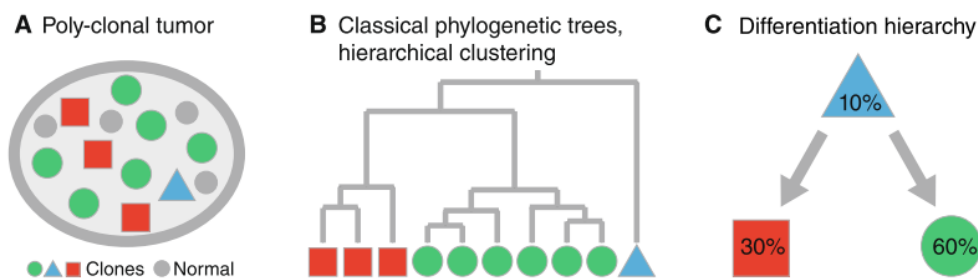


شکل ۳.۱: میزان خطای عملکرد الگوریتم بیت‌فیلوژنی نسبت به دو الگوریتم خوشه‌بندی k هسته‌ای و دسته‌بندی سلسله مراتبی در سطوح مختلف درخت در حالت‌های تک‌کلونی و چندکلونی [۳۴]

در شکل ۴.۱ به طور کلی مراحل عملکرد الگوریتم بیت‌فیلوژنی را مشاهده می‌کنید. این شکل تومور چندکلونی A را نشان می‌دهد که به روش توالی‌یابی نمونه‌گیری شده است. این تومور شامل سه کلون مجزا و سلول‌های سالم (دایره‌های خاکستری رنگ) است. در تصویر میانی یک درخت بلقوه که نشان‌دهنده سیر تکاملی تومور است نشان داده شده است. در تصویر سمت راست درخت کلونی بدست آمده از درخت تکاملی تومور گفته شده با الگوریتم بیت‌فیلوژنی مشاهده می‌شود که در آن کلون‌ها و فراوانی هر یک مشهود است.

¹⁷Consistency

¹⁸Accuracy



شکل ۴.۱: مراحل عملکرد الگوریتم بیت فیلوژنی

۴.۱ الگوریتم SCITE [۱۲]

این الگوریتم با استفاده از داده‌های توالی‌یابی تک سلولی^{۱۹} سعی در استنباط درخت فیلوژنی تومور دارد. همانطور که پیشتر نیز اشاره شد، یک تومور ناشی از تجمع تعدادی سلول با ویژگی‌های ژنی متفاوت است و این سلول‌ها سعی دارند تا این ویژگی‌های ژنی منحصربه‌فرد را از طریق تکثیر سلولی به سلول‌های بعدی منتقل کنند. [۴]

وجود سلول‌ها با جهش‌های متفاوت سبب می‌شود که تومور از زیرنواحی گوناگون، که به کلون مشهور هستند، تشکیل شود. هر چه تومور از تعداد کمتری زیرکلون تشکیل شده باشد درمان آن ساده‌تر خواهد بود. در نظر گرفتن هر کلون به صورت یک تومور جداگانه، مطالعه و بررسی هر یک از این زیرتومورها به صورت دقیق‌تر و یافتن سیر تکاملی آنها سبب می‌شود تا درمان تومور به صورت کارآمدتری انجام شود. [۲]

یکی از چالش‌های بزرگ در زمینه تشخیص و مطالعه کلون‌های درون تومور، توالی‌یابی قسمت‌های مشترک دنباله‌های دی‌ان‌ای است، زیرا شامل ترکیب‌های بسیار زیادی (در حدود میلیون‌ها ترکیب) از ژنهای سلول‌های گوناگون است. جهش‌های بدست آمده از ترکیب توالی سلول‌های مختلف، با تعداد زیرنواحی توموری (کلون) متناسب است و با استفاده از تعداد زیرنواحی می‌توان تخمین نزدیکی از جهش‌های درون یک نمونه را بدست آورد [۱۹]. به همین دلیل به منظور شناسایی دقیق هر یک از زیرنواحی توموری (کلون‌ها) لازم است تا اطلاعات حاصل از نواحی مشترک کلون‌ها به دقت مورد تحلیل و تجزیه قرار گیرد. [۲۴]

الگوریتم Scite از طریق داده‌های توالی‌یابی تک سلولی قادر است سیر تکاملی تومور را از طریق درخت جهشی تومور که در آن ترتیب وقوع جهش‌ها مشخص است یا از طریق استنباط درخت فیلوژنیک تومور که در آن هر برگ نشان دهنده یک سلول است، نشان دهد. خروجی مدل Scite نتیجه ارزیابی بهتری در مقایسه با

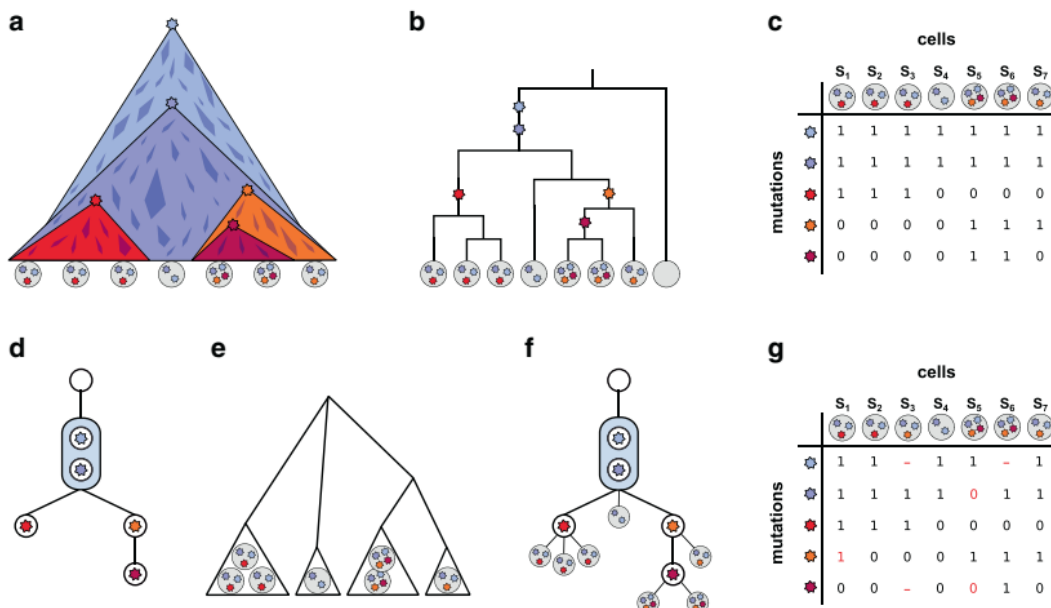
¹⁹Single cell sequencing

الگوریتم بیت فیلوژنی بر روی داده‌های واقعی داراست. الگوریتم Scite از طریق معیار بیشینه درست‌نمایی و احتمال رخداد هر جهش و با استفاده از ماتریس ژنوتایپ ورودی تعیین می‌کند که کدام درخت استنباط بهتری از سیر تکاملی تومور است. در حالتی که تعداد جهش‌ها بسیار زیاد باشد یعنی تعداد ستون‌های ماتریس ژنوتایپ ورودی زیاد باشد، ساخت درخت فیلوژنیک راحت‌تر خواهد بود، اما در حالتی که تعداد سلول‌ها زیاد باشد (تعداد سطرهای ماتریس ژنوتایپ بالا باشد) ساخت درخت جهشی تومور (ترتیب وقوع جهش‌ها) راحت‌تر است. به طور خلاصه اینکه کدام نوع درخت (جهشی یا فیلوژنیک) در نهایت بیان‌کننده سیر تکاملی تومور باشد به نرخ جهش‌های توموری و روش توالی‌یابی داده‌ها بستگی دارد.

در الگوریتم Scite از دو فرض اصلی استفاده می‌شود:

- فرض مکان‌های بی‌نهایت^{۲۰} که بر طبق آن هر جهش تنها یکبار در هر موقعیت از ژنوم رخ می‌دهد.
 - فرض جهش‌های نقطه‌ای یعنی مدل تکاملی تومور به جهش‌های نقطه‌ای محدود می‌شود.
- مانند الگوریتم بیت فیلوژنی از یک ماتریس ژنوتایپ (ماتریس دودویی‌ها که سطرها نمایانگر نمونه‌ها و ستون‌ها بیانگر جهش‌هاست) به عنوان ورودی الگوریتم استفاده می‌شود. موقعیت هر جهش به صورت درایه i و j از ماتریس $n * m$ مشخص می‌شود. به این صورت که مقدار صفر در سطر i ام و درایه j ام بیانگر آن است که جهش از نوع j در سطر i وجود ندارد. یک ماتریس ژنوتایپ را ماتریس فیلوژنی کامل^{۲۱} گوئیم هر گاه به ازای آن یک درخت فیلوژنیک متناظر باشد. در الگوریتم scite همانند الگوریتم بیت فیلوژنی از الگوریتم زنجیره مارکوف مونت کارلو برای استنباط درخت تکاملی تومور از داده‌های توالی‌یابی تک سلولی استفاده می‌شود، با این تفاوت که فضای جستجو برای انتخاب پارامترها بسیار محدودتر از حالت بیت فیلوژنی است و نرخ خطاهای داده (مثبت کاذب و منفی کاذب) برای همه جهش‌ها یکسان در نظر گرفته شده است. محدود کردن فضا جستجو برای انتخاب پارامترها از طریق نمونه‌برداری در این فضا، سبب می‌شود تا بر اساس سیر زمانی جهش، بیشینه درست‌نمایی از روی توزیع احتمال پیشین نمونه‌ها بدست آید. یکی از مزایای این روش محاسبه نرخ خطا توالی‌یابی است. شکل ۵.۱ یک استنتاج تکاملی از داده‌های توالی‌یابی تک سلولی را نشان می‌دهد. در این شکل، a یک ماتریس فیلوژنی کامل است اما g ماتریس داده‌های واقعی است که شامل مقادیر از دست‌رفته، خطای مثبت کاذب و خطای منفی کاذب است. ماتریس داده‌های واقعی با D و ماتریس فیلوژنی کامل را با E نشان داده شده است.

²⁰Infinite sites²¹Perfect phylogenetic matrix



شکل ۵.۱: یک استنتاج تکاملی از داده‌های توالی‌یابی تک سلولی [۱۲]

منظور از خطای مثبت کاذب این است که به عنوان مثال در یک موقعیت خاص از ماتریس E جهشی وجود ندارد (مقدار ماتریس برابر صفر است) اما در همین موقعیت مقدار یک (وجود جهش) در ماتریس D وجود دارد. نرخ خطای مثبت کاذب با α و نرخ خطای منفی کاذب با β نشان داده می شود. مقادیر α و β از طریق روابط ۴.۱ تعریف می گردند.

$$\begin{aligned} P(D_{ij} = \circ | E_{ij} = \circ) &= \alpha, & P(D_{ij} = \circ | E_{ij} = \circ) &= \circ - \alpha \\ P(D_{ij} = \circ | E_{ij} = \circ) &= \beta, & P(D_{ij} = \circ | E_{ij} = \circ) &= \circ - \beta \end{aligned} \tag{9.1}$$

در این معادلات فرض بر استقلال نرخ خطاهای مشاهده شده است. مقدار درست‌نمایی درخت جهشی T با

$y =$ xx. $\theta = (\alpha, \beta)$ به صورت زیر محاسبه می گردد.

در معادله بالا E ماتریس جهش دار است که با درخت جهشی T و بردار ضمیمه ∂ تعریف می‌گردد. توزیع

$y =$ احتمال یسین به صورت زیر محاسبه می گردد:

به منظور بالا رفتن سرعت همگرایی مدل زنجیره مارکوف مونت کارلو فرض می شود که بردار ضمیمه θ توزیع

یکنواخت دارد. در نتیجه:

$y = xxx$

$y = xx$

۱.۴.۱. پایگاه داده

15

دیگر محدودیت‌های این روش آن است که جهش‌هایی که در همه سلول‌ها وجود دارند یا جهش‌هایی که فقط در یک سلول مشاهده شده‌اند (سطری با مقادیر تماماً یک در ماتریس ورودی) در روند استنباط درخت مورد استفاده قرار نمی‌گیرند.

۵.۱ الگوریتیم Onconem [۲۲]

این الگوریتم در سال ۲۰۱۶ با هدف یافتن تاریخچه تکاملی ناحیه‌های درون توموری با استفاده از داده‌های توالی‌یابی تک سلولی ارائه گردید. این الگوریتم قادر است تا ناحیه‌های درون توموری مشابه را درون یک دسته قرار دهد و برای آنها یک ژنوتایپ یکتا در نظر بگیرد. این الگوریتم بر مبنای تغییرات تک نوکلئوتیدی، درخت تکاملی تومور را استنباط می‌کند و قادر به یافتن خطاهای ژنوتایپی می‌باشد. در نهایت با ارزیابی بر روی داده‌های آزمایش، مدل نهایی سنجیده شده و سلول‌ها با جهش‌های یکسان در یک گروه دسته‌بندی شده و در انتها رابطه میان جهش‌ها و ژنوتایپ‌های مشاهده شده و مشاهده نشده (پیش‌بینی شده) مشخص می‌گردد. این الگوریتم هم می‌تواند درخت کلونال توموری و هم درخت فیلوژنیک توموری (قرارگرفتن سلول‌ها به عنوان برگهای درخت) را به عنوان خروجی بدست دهد. ورودی این الگوریتم ماتریس دودویی ژنوتایپ به همراه نرخ خطا مثبت کاذب و نرخ خطا منفی کاذب و نرخ خطا داده‌های از دست رفته است. در ادامه، الگوریتم سعی می‌کند تا سلول‌ها با ژنوتایپ‌های مشابه را در یک گروه قرار دهد و در نهایت درختی که بیشترین شباهت را با دسته‌بندی صورت گرفته را دارد به عنوان درخت تکاملی تومور استنباط کند. از نکات قوت این الگوریتم آن است که قادر است کلون‌هایی را که احتمال وجود آنها بالاست اما در داده‌های نمونه‌گیری شده حضور ندارند حدس بزند. این الگوریتم از دو قسمت اصلی، تشکیل شده است:

- ایجاد یک مدل احتمالاتی به منظور مدل کردن جمیع جهش‌ها بر مبنای داده‌های نوپزی و روابط میان داده‌ها

- پیدا کردن درخت‌هایی با بیشترین میزان درست‌نمایی در فضای جستجو

توزیع احتمال پسین با فرض D به عنوان مجموعه داده‌های مدل به صورت زیر محاسبه می‌گردد $y = xxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxx$

که در آن τ نمایانگر یک درخت جهش‌دار (که نباید حتماً دودویی باشد) است که ریشه آن یک گره سالم و

۱.۵.۱ پایگاه داده

به منظور ارزیابی عملکرد الگوریتم Onconem از دو پایگاه داده مجزا استفاده شده است

- داده‌های توالی‌یابی تک سلولی مربوط به سرطان مثانه که شامل ۴۴ سلول سرطانی است. در حدود ۵۵ درصد از انواع جهش‌های موجود در این پایگاه داده، اطلاعاتی در دسترس نیست یعنی بیش از نیمی از داده‌های موجود از اطلاعات از دست رفته^{۲۲} اند. خروجی الگوریتم Onconem برای این پایگاه داده یک درخت فیلوژنی با سه کلون اصلی می‌باشد و یک چهارم سلول‌های جهش‌یافته را شامل می‌شود.
- داده‌های مربوط به سرطان خون که در مدل کیم و سایمون و الگوریتم بیت‌فیلوژنی از آن استفاده شده بود، در این ارزیابی مورد استفاده قرار گرفت. میزان لگاریتم درست‌نمایی الگوریتم Onconem برای این مجموع داده برابر ۹۹۶۴- گزارش شده است که بالاتر از مقداری است که الگوریتم بیت‌فیلوژنی به آن رسیده بود (۱۱۵۸۴-).

۶.۱ الگوریتم Sasc [۲۲]

سرطان ناشی از جهش‌های ژنومیک یک سلول است که این جهش‌ها به مرور زمان رشد و تکثیر می‌یابند و زیرنواحی متفاوتی را ایجاد می‌کنند. این زیرنواحی، که به آنها کلون نیز گفته می‌شود، خصوصیات متفاوتی دارند و در کنار هم یک توده سرطانی را تشکیل می‌دهند. بررسی تاریخچه تکاملی تومور می‌تواند کارآمدی درمان‌های موجود را بهبود بخشد و امکان عود مجدد تومور را تا حد زیادی کاهش دهد. به منظور درک بهتر تاریخچه تکاملی تومور فرض‌های گوناگونی جهت ساده‌سازی مسئله صورت می‌گیرد، مثل فرض مکان‌های بی‌نهایت که طبق آن هر جهش یکتایی تنها یکبار رخ می‌دهد. مطالعات زیادی صورت گرفته است که نشان می‌دهد در نظر گرفتن فرض مکان‌های بی‌نهایت به تنهایی برای استنباط روند تکاملی تومور کافی نیست و محدودیت‌هایی دارد، به همین منظور برای درک بهتر نواحی ناهمگن توموری باید فرض‌های دیگری را به مسئله اضافه کنیم. به همین دلیل یک فرضیه جدید تحت عنوان k-dollo ارائه گردید که بر طبق آن و بر خلاف فرض مکان‌های بی‌نهایت، هر جهشی تنها یکبار رخ می‌دهد اما امکان از دست دادن این جهش به تعداد k در تاریخچه تکاملی تومور وجود دارد. الگوریتم

²²Missing data

$y = xxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxx$

به منظور ارزیابی عملکرد الگوریتم Sasc از دو پایگاه داده مجزا استفاده شده است:

- خروجی الگوریتم در مقایسه با الگوریتم Scite از مقدار بیشینه درست‌نمایی بیشتری برای مدل کردن داده‌ها برخوردار است.

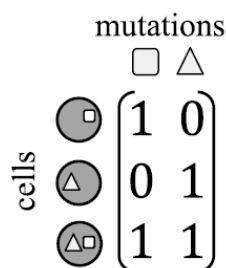
مدل ارائه شده در این مقاله که در سال ۲۰۲۰ به چاپ رسیده است، یک مدل تکاملی است که امکان حذف

هر نوع جهشی را با در نظر گرفتن حذف خطا^{۲۳} در نظر می‌گیرد. این مدل اجازه حذف دگرگونی تک‌هسته‌ای^{۲۴}

²³loss-supported²⁴Single nucleotide variant (SNV)

را تنها هنگامی که با شواهد داده توالی‌یابی تک سلولی دی‌ان‌ای از یک حذف در همان مکان هندسی^{۲۵} همراه شده باشد، می‌دهد. این مدل پایه الگوریتم اسکارلت خواهد بود که فیلوژنی تومور را از داده توالی‌یابی تک سلولی دی‌ان‌ای با احتساب هر دوی خطای توالی‌یابی و حذف جهش‌ها نتیجه می‌دهد. تعداد کمی از جهش‌های سوماتیک منجر به پیشروی سرطان می‌شوند، اما تمام جهش‌های سوماتیک نشانگرهای زیستی تاریخچه تکامل تومور هستند. روشهای غالب ساخت فیلوژنی داده توالی‌یابی تک سلولی دی‌ان‌ای از دگرگونی تک‌هسته‌ای‌ها به عنوان نشانگرهای زیستی استفاده می‌کنند اما در به حساب آوردن تغییر تعداد کپی، که ممکن است با دگرگونی تک‌هسته‌ای همپوشانی داشته باشد و منجر به حذف دگرگونی تک‌هسته‌ای شود، ناتوان است. الگوریتم پیشنهادی اسکارلت، فیلوژنی تومور را از داده توالی‌یابی تک سلولی دی‌ان‌ای، خطای توالی‌یابی و حذف دگرگونی تک‌هسته‌ای از طریق تغییر تعداد کپی را لحاظ می‌کند. این الگوریتم عملکرد بهتری نسبت به روشهای موجود بر روی داده‌های شبیه‌سازی شده دارد. توالی‌یابی تک سلولی دی‌ان‌ای از تومور بدلیل افزایش بازدهی الگوریتم و کاهش هزینه ایزوله کردن، نشانه‌گذاری و توالی‌یابی سلول‌های انفرادی از محبوبیت روزافزونی برخوردار است. این روش از پیچیدگی بازسازی فیلوژنی با نمونه‌گیری‌های فراوان از سلول‌ها را جلوگیری می‌کند. شایان توجه است که نمونه‌برداری تک سلولی به علت خطای توالی‌یابی، نمونه‌برداری کمتر و خطای تشدید دی‌ان‌ای، خطای اطلاعات از دست رفته را بالاتر خواهد برد.

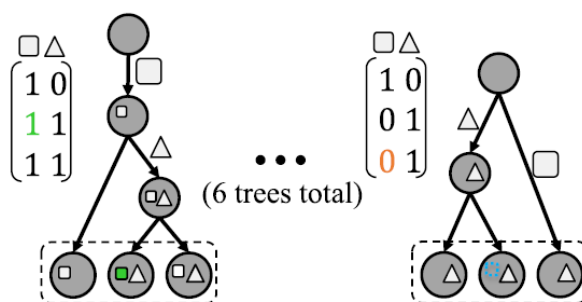
یکی از چالش‌های ساخت فیلوژنی با استفاده از داده‌های توالی‌یابی تک سلولی دی‌ان‌ای، که از دگرگونی‌های تک‌هسته‌ای به عنوان نشانگر زیستی استفاده می‌کند، نرخ بالای خطای ترک آلل (تا ۳۰ درصد) هست. به همین منظور باید بتوان مدل تکاملی فیلوژنی را همزمان با در نظر گرفتن داده‌های ورودی از بین‌رفته ساخت. شکل ۷.۱ نمونه ماتریس داده‌ها را نشان می‌دهد. عدد صفر به معنای عدم وجود جهش و عدد یک به معنای جهش برای سلول مورد نظر است.



شکل ۷.۱: عنوان

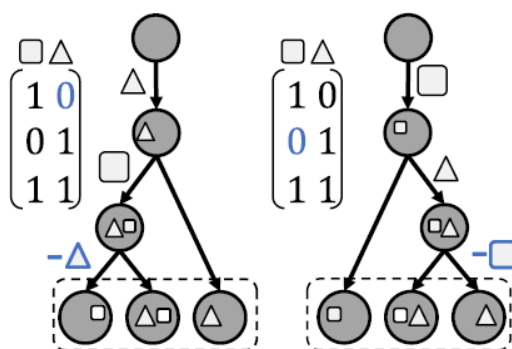
²⁵Loci

اگر داده‌های توالی‌یابی عاری از هر گونه خطا باشند، فیلوژنی کامل منحصر بفرد^{۲۶} بدست خواهد آمد. با در نظر گرفتن وجود خطا در ماتریس فیلوژنی و کاهش خطاهای موجود، می‌توان مدل فیلوژنی کامل را ساخت. از آنجایی که حالت‌های متعددی از تصحیح‌های متعدد امکان‌پذیر است، امکان استنباط چندین فیلوژنی گوناگون سازگار با داده‌ها وجود دارد. با استفاده از مدل مکان‌های بی‌نهایت و اصلاح خطاها می‌توان درخت‌های فیلوژنی‌های کامل^{۸.۱} را ساخت. در اینجا ۶ درخت ممکن است.



شکل ۸.۱: عنوان

شکل ۹.۱ فیلوژنی با فرض دولو^{۲۷} را نشان می‌دهد. این مدل با شناسایی حذف جهش‌ها به منظور رفع تناقض مدل مکان‌های بی‌نهایت می‌تواند درخت‌های ۹.۱ را بسازد. هر دو مدل دولو و مکان‌های بی‌نهایت می‌توانند چندین درخت ممکن را بسازند. حتی در حالت‌های ساده‌ای که خطا وجود ندارد، استنباط چندین فیلوژنی



شکل ۹.۱: عنوان

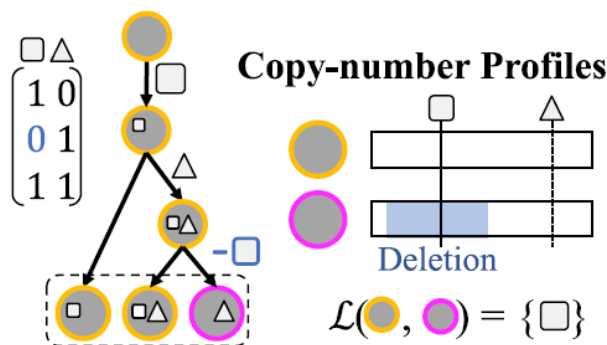
سازگار با داده‌ها ممکن است وجود داشته باشند. در صورتی که خطا وجود داشته باشد و عدم قطعیت در ماتریس جهش وجود داشته باشد، تعداد این درخت‌های احتمالی بسیار بیشتر خواهد شد. خطای داده توالی‌یابی تک

²⁶Perfect phylogeny

²⁷Dollo

سلولی دی‌ان‌ای و حذف جهش‌ها منجر به پیچیدگی مسئله و ابهام در استنباط فیلوژنی خواهد شد. به عنوان مثال با مشاهده کردن ۰ در ماتریس جهش به جای ۱ نمی‌توان براحتی بین خطاهای داده‌ها و حذف جهش‌ها تفاوتی قائل شد. عمده محدودیت الگوریتم‌های دولو یا مکان‌های بی‌نهایت‌ایی که اجازه حذف جهش‌ها را می‌دهند این است که هیچکدام از این روش‌ها شواهد تغییر تعداد کپی در حذف جهش‌ها را در یک مکان هندسی در نظر نمی‌گیرند. مدل‌های چند حالت^{۲۸} از تکامل تومور که از داده‌های توالی‌یافته با نمونه‌های زیادی از تومور استفاده می‌کنند. این نگرش‌ها نه خطای موجود در داده توالی‌یابی تک سلولی دی‌ان‌ای را مدل می‌کنند و نه در ابعاد صدها یا هزاران سلول قابلیت مدل کردن را دارند.

از آنجایی که حذف جهش‌ها پیچیده‌ترین قسمت در تکامل دگرگونی تک‌هسته‌ای است و مسئول اکثر تناقضات در مدل مکان‌های بی‌نهایت در داده‌های توالی‌یابی تک سلولی دی‌ان‌ای هستند، در نگرش ارائه شده در این الگوریتم، حذف جهش‌ها را با استفاده از داده‌های جهش‌های تغییر تعداد کپی از همان سلول‌ها محدود خواهد کرد. در نتیجه الگوریتم اسکارلت با یکپارچه کردن دگرگونی تک‌هسته‌ای و داده‌های حذف و تغییر تعداد کپی^{۲۹}، درخت فیلوژنی را براساس داده توالی‌یابی تک سلولی دی‌ان‌ای می‌سازد. الگوریتم اسکارلت براساس مدل فیلوژنی با در نظر گرفتن حذف خطا است که حذف جهش‌ها را محدود به مکان‌های هندسی خواهد کرد. به عنوان مثال در این الگوریتم داده تغییر تعداد کپی گواه یک حذف است. شکل زیر مدل فیلوژنی با در نظر گرفتن خطا حذف را نشان می‌دهد که با استفاده از داده تغییر تعداد کپی سعی در محدود کردن حذف جهش‌ها دارد تا بتواند ابهام^{۳۰} ایجاد شده را رفع کند.



شکل ۱۰.۱: عنوان

////////////////////////////////////

²⁸Multi-state

²⁹Copy number variation (CNV)

30 conflict

مدل فیلوژنی با در نظر گرفتن حذف خطا، مدلی از تکامل دگرگونی تک هسته‌ای است که جهش حداکثر یکبار رخ خواهد داد ($a-0$) اما حذف جهش‌ها ($a-0$) توسط مجموعه از مقدار خطا حذف که توسط تغییر تعداد کپی‌ها تعریف می‌شوند محدود خواهد شد. برای هر جفت سلول، از مجموعه جهش‌های تغییرات تعداد کپی، مجموعه خطا به صورت، تعریف خواهد شد. مدل فیلوژنی با در نظر گرفتن حذف خطا، توسعه‌دهنده مدل‌های مکان‌های بی‌نهایت و دولو می‌باشد. ضمناً الگوریتم اسکارلت متکی بر مدل احتمالاتی تعداد خوانش‌ها برای هر دگرگونی تک هسته‌ای است تا خطاها و داده‌های از بین رفته، که در توالی‌یابی تک سلولی دی‌ان‌ای معمول هستند، را مورد توجه قرار می‌دهد.

اسکارلت سه ویژگی مهم دارد:

- مدل فیلوژنی با در نظر گرفتن حذف خطا، حذف جهش‌ها را محدود به مکان‌هایی می‌کند که کاهش متناظر با آن در تعداد جهش‌های کپی وجود داشته باشد.
- این الگوریتم با استفاده از مدل فیلوژنی با در نظر گرفتن حذف خطا، ابتدا درخت فیلوژنی اولیه استنتاج شده را پایش و سپس از طریق داده‌های تغییر تعداد کپی، فیلوژنی نهایی را استنباط می‌کند.
- استنتاج مبتنی بر بیشینه درست‌نمایی از دگرگونی‌های تک هسته‌ای با استفاده از مدل احتمالاتی تعداد خوانش‌های مشاهده شده در داده‌های توالی‌یابی تک سلولی دی‌ان‌ای توسط الگوریتم اسکارلت اجرا می‌شود.

اگر تعدادی جهش‌های حذف و تغییر تعداد کپی موجود باشند و وضعیت جهش‌های تغییر تعداد کپی را با رنگ قرمز و حذف نواحی ژنوم در طول کل ژنوم را با رنگ آبی نشان دهیم:

آنگاه مجموعه خطا مدل فیلوژنی با در نظر گرفتن حذف خطا، توسط مجموعه‌های ۱۳.۱ نمایش داده خواهد شد:

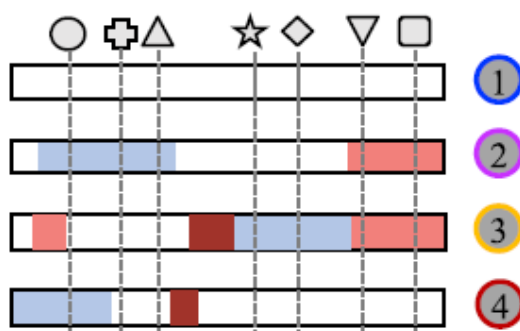
الگوریتم اسکارلت به صورت مستقیم وضعیت جهش‌های حذف و تغییر تعداد کپی سلول‌های پدری را نشان نخواهد داد. به منظور غلبه بر این موضوع یک درخت برای جهش‌های حذف و تغییر تعداد کپی زیر را در نظر خواهد گرفت که از روی وضعیت جهش‌های حذف و تغییر تعداد کپی سلول‌های مشاهده شده، ساخته شده است.

دو ورودی برای الگوریتم اسکارلت در نظر گرفته می‌شود:

CNAs

Copy-number profiles

Mutations



شکل ۱۱.۱: عنوان

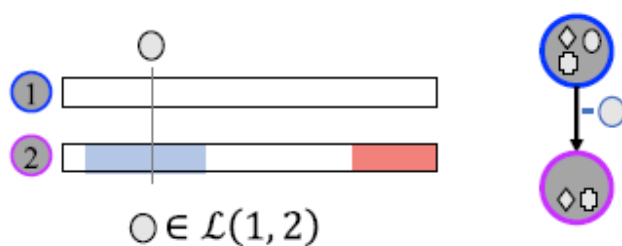
Supported losses \mathcal{L}

$$\mathcal{L}(1, 2) = \{\circ, \oplus, \triangle\}$$

$$\mathcal{L}(1, 4) = \{\circ\}$$

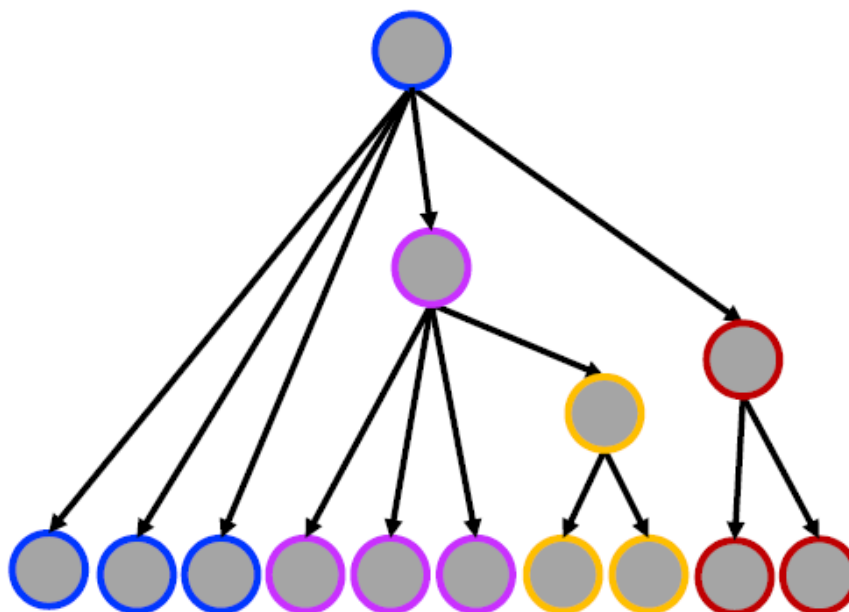
$$\mathcal{L}(2, 3) = \{\star, \diamond\}$$

شکل ۱۲.۱: عنوان



شکل ۱۳.۱: عنوان

- مجموعه خطاهای ناشی از حذف جهش‌ها است، که مجموعه‌های تهی در آن نمایش داده نمی‌شوند. این مجموعه جهش‌هایی که تحت تاثیر حذف قرار می‌گیرند را نشان می‌دهند.



شكل ١٤.١: عنوان

- یک درخت فیلوژنی برای جهش‌های تغییر تعداد کپی، که با استفاده از آن می‌توان روابط بین سلول‌های مشاهده شده (برگ‌ها) را آنگونه که توسط وضعیت جهش‌های تغییر تعداد کپی تعیین شده، نشان داد.

برای دگرگونی‌های تک‌هسته‌ای تنوع^{۳۱} X و مجموع^{۳۲} Y از تعداد خوانش‌ها^{۳۳} برای هر سلول و هر جهش مطابق ماتریس ۱۵.۱ تهیه شده است:

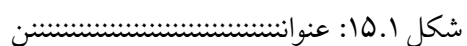
در ادامه الگوریتم اسکارلت، روابط بین اتصال سلولها (T) را از سلول های مشاهده شده (برگها) و ماتریس جهش پیشینه درست‌نمایی B^* را با محدود کردن حذف جهش ها به مجموعه

[illegible]

از خطاهای احتمالی حساب میکند. سپس با مقایسه T' از T و انتخاب بیشینه درست‌نمایی B^* را با استفاده از مدل احتمالاتی برای حضور ($b_{i,j} = 1$) و یا عدم حضور ($b_{i,j} = 0$) هر دگرگونی تک‌هسته‌ای در هر سلول را انجام می‌دهد.

31 Variant

³²Total³³Read counts

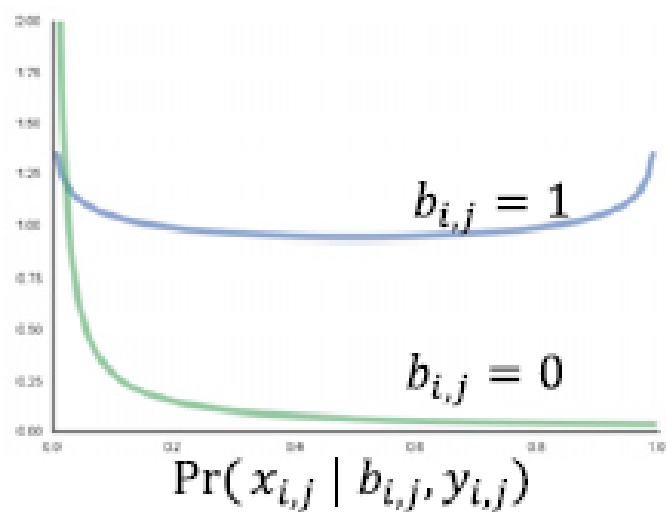


The diagram illustrates the relationship between a tree structure and a directed acyclic graph (DAG) structure. On the left, a tree structure is shown with a root node (blue circle) and several child nodes (purple, yellow, and red circles). On the right, a DAG structure is shown with a root node (blue triangle) and several child nodes (purple, yellow, and red triangles). Dashed arrows indicate the mapping between the two structures: a blue dashed arrow connects the root nodes, a purple dashed arrow connects the first level of child nodes, a red dashed arrow connects the second level of child nodes, and a yellow dashed arrow connects the third level of child nodes.

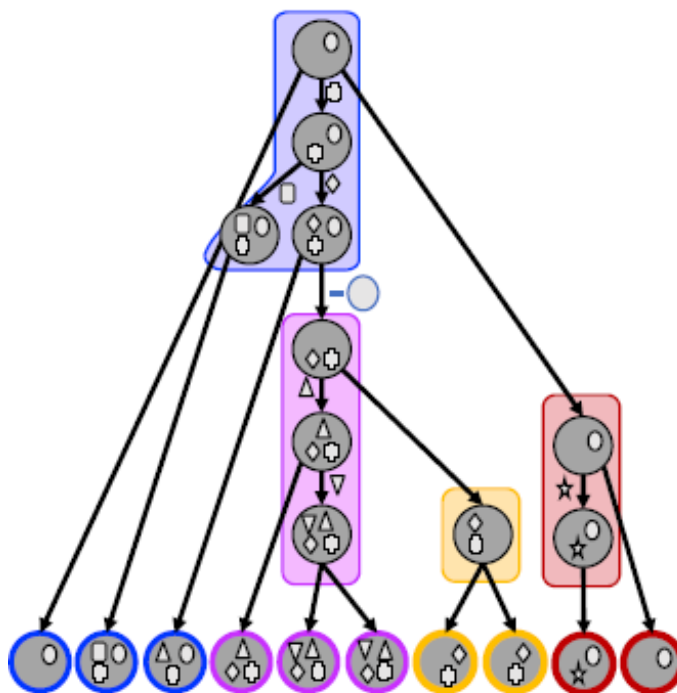
مدل احتمالاتی برای توالی‌یابی داده:

و در نهایت ماتریس جهش‌ها B^* با بیشینه درست‌نمایی:

۲۳



شکل ۱۷.۱: مدل احتمالاتی برای توالی‌یابی داده



شکل ۱۸.۱: ساختن درخت اتصالات T'

$$y = \text{xxxxxxxxxxxxxxxxxxxx}$$

الگوریتم اسکارلت از ۲ قسمت اصلی زیر تشکیل شده است.

Mutations

	□	◻	△	☆	◇	▽	○
Cells	0	0	0	0	0	0	1
	0	1	0	0	0	0	1
	0	1	1	0	0	0	1
	0	1	1	0	1	0	0
	0	1	1	0	1	1	0
	0	1	1	0	1	1	0
	0	1	0	0	1	0	0
	1	1	0	0	1	0	0
	0	0	0	1	0	0	1
	0	0	0	1	0	0	1

شکل ۱۹.۱: ماتریس جهش‌ها B^* با بیشینه درست‌نمایی

- محاسبه وضعیت‌های جهش با بیشینه درست‌نمایی R^* از ریشه زیردرخت‌ها^{۳۴}
- استنتاج هر زیردرخت به صورت مستقل با هدف بیشینه درست‌نمایی با شرط داشتن R^* .

در اینجا $I(T)$ مجموعه نودهای داخلی درخت T را بیان می‌کند.

$$y = xxxxxxxxxxxxxxxxxxxx$$

مرحله اول:

$$y = xxxxxxxxxxxxxxxxxxxx$$

در اینجا با فرض داشتن R راست‌نمایی محاسبه خواهد شد و R^* با شمارش حالت جهش‌های معتبر برای هر موقعیت مکانی جهش a محاسبه شده و سپس بیشینه راست‌نمایی بالا حساب خواهد شد.

مرحله دوم:

یافتن زیردرخت‌ها پایش‌شده:

تعریف ماتریس سه‌تایی (ternary): مولفه‌های این ماتریس مقادیر ۰ و ۱ و ؟ می‌باشند.

$$y = xxxxxxxxxxxxxxxxxxxx$$

و در نهایت حل معادله برنامه‌ریزی خطی عدد صحیح زیر:

$$y = xxxxxxxxxxxxxxxxxxxx$$

منوط به شروط زیر: $y = xxxxxxxxxxxxxxxxxxxx$

³⁴Subtrees

با فرض اینکه M عدد ثابت و بزرگی است:

$$y = xxxxxxxxxxxxxxxxxxxx$$

$$y = xxxxxxxxxxxxxxxxxxxx F_{w,a,b} \text{ نقض}$$

$$G_{w,a,b} \text{ نقض}$$

$$y = xxxxxxxxxxxxxxxxxxxx F_{w,a,b} \text{lr}$$

$$H_{w,a,b} \text{ نقض}$$

$$y = xxxxxxxxxxxxxxxxxxxx F_{w,a,b} \text{lr}$$

۸.۱ الگوریتم DeepPhylo [۱]

همانطور که می‌دانیم، سرطان یک بیماری تکاملی است که با تجمع تدریجی جهش بدنی^{۳۵} در سلول‌های تومور مشخص می‌شود. رمزگشایی از تاریخچه تکاملی یک تومور، یک چالش مهم در مطالعات سرطان است و می‌تواند از جنبه‌های مهم بالینی از جمله پیشرفت تومور^{۳۶}، گسترش متاستاتیک^{۳۷} و وجود زیرکلون‌های واگرا^{۳۸} در شاخه‌های مختلف درخت فیلوژنتیک تومور درک بهتری از تومور در اختیار ما بگذارد. با توجه به اهمیت مسئله، تحولات سریعی در طراحی روش‌های محاسباتی اصولی برای استنباط فیلوژنی تومور وجود داشته است. بسیاری از این روش‌ها از داده‌های توالی‌یابی‌های انبوه^{۳۹} استفاده می‌کنند که DNA میلیون‌ها سلول سرطانی و طبیعی با هم یک توالی را تشکیل می‌دهند. استنباط درخت فیلوژنی با استفاده از این نوع داده‌ها، معمولاً بر مبنای دگرگونی‌های شناسایی شده^{۴۰} از بخش‌های مختلف سلول‌های سرطانی انجام می‌شود. به عنوان مثال: حذف و تغییر تک‌نوکلئوتیدها^{۴۱} [۹، ۱۷، ۶، ۲۵، ۱۱]، حذف و تغییر تعداد کپی [۳۵]، دگرگونی‌های ساختاری^{۴۲} [۷، ۲۱].

اگرچه استنباط درخت فیلوژنی با استفاده از این نوع داده مقرون به صرفه است اما رزولوشن^{۴۳} پایین داده‌های

³⁵Somatic mutation

³⁶Tumor progression

³⁷Metastatic spread

³⁸Divergent subclones

³⁹Bulk sequencing data

⁴⁰Detected variants

⁴¹Single nucleotide variants (SNV)

⁴²Structural variant

⁴³Resolution

توالی‌یابی‌های انبوه یک فاکتور محدود کننده در مدل‌سازی تکامل تومور است. به طور خاص داده‌های توالی‌یابی‌های انبوه ناشی از یک نمونه تومور به طور معمول یک توپولوژی خطی را به عنوان یک راه حل بهینه در تعیین درخت فیلوژنی تومور در نظر می‌گیرد. [۶]

با این حال، دانستن اینکه آیا تومور شامل زیرکلون‌های واگرایی است که از طریق شاخه‌های متمایزی از فیلوژنی تومور تکامل می‌یابند، گام مهمی در جهت درک بهتر پیشرفت تومور و بهبود طرح درمانی است. تحولات اخیر تکنولوژی، محققان را قادر به انجام آزمایش‌های توالی‌یابی تک سلولی کرده است، جایی که DNA از یک سلول استخراج، تکثیر و توالی‌یابی می‌شود. توالی‌یابی تک سلولی، داده‌هایی با رزولوشن بالا برای مطالعه تکامل تومور با جزئیات زیاد را فراهم می‌کند، به عنوان مثال، امکان شناسایی توپولوژی شاخه‌ای با اطمینان بالا یا حل مشکل کلی استنباط کامل تاریخ تکامل تومور را فراهم می‌کند، حتی زمانی که تمام سلول‌های تک توالی که از یک نمونه بیوپستی^{۴۴} توموری استخراج شده باشد. روش‌های متعددی برای استنباط تاریخچه تکاملی تومور از طریق توالی‌یابی تک سلولی وجود دارد که از مهمترین آنها می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

- رویکردهای مبتنی بر آمار و احتمالات که از فرض مکان‌های بی‌نهایت استفاده می‌کنند. مثل الگوریتم lrSCITE [۱۲] و الگوریتم OncoNEM [۲۲].

- رویکردهایی که از فرض مکان‌های بی‌نهایت استفاده نمی‌کنند و فرض را بر این می‌گذارند که تخطی‌های در شکل‌گیری درخت تکاملی فیلوژنی تا یک مقدار خطا مشخص وجود دارد، مثل الگوریتم SiFit [۳۷].

به تازگی الگوریتم‌هایی مثل SPhyR که از یک رویکرد بهینه‌سازی ترکیبی مبتنی بر زوجیت دولو^{۴۵} استفاده می‌کنند یا الگوریتم SiCloneFit که بهینه یافته الگوریتم SiFit می‌باشد، ارائه شده است. [۸، ۳۶]

شایان ذکر است که روش‌های همچون PhISCS-BnB^{۴۶}، که از روش‌های بهینه‌سازی بر مبنای شاخه-مرز^{۴۶} استفاده می‌کنند، و یا روش‌هایی مثل ScisTree، که بر مبنای اتصال اکتشافی همسایگی^{۴۷} عمل می‌کند، به منظور بهبود زمان محاسباتی استنباط درخت فیلوژنی تومور ارائه شده‌اند. [۲۳، ۳۳]

در حالتی که هم داده‌های توالی‌یابی‌های انبوه و هم داده‌های توالی‌یابی تک سلولی موجود باشد می‌توان تقریب دقیق‌تری از درخت فیلوژنی تومور بدست آورد. [۱۵، ۱۸]

^{۴۴}Biopsy

^{۴۵}Dollo parsimony

^{۴۶}Branch-bound

^{۴۷}Joining-based heuristic

همانطور که در بالا خلاصه شد، روش‌های موجود برای بازسازی فیلوژنی تومور با استفاده از داده‌های توالی‌یابی تک سلولی محدودیت‌های مهمی دارند. اولاً، بسیاری از این روش‌ها، فرض مکان‌های بی‌نهایت را به کار می‌گیرند (حتی در مواقعی که شرایطی برای خطای محدود^{۴۸} و افزایش همزمان جهش‌ها^{۴۹} در نظر گرفته شود) و سطح نویز یکنواختی را در نظر می‌گیرند (منفی کاذب و همچنین نرخ مثبت کاذب) هر دو این محدودیت‌ها، با پیشرفت درک ما از تکامل تومور و فناوری توالی‌یابی تک سلولی تغییر می‌کند. مهمتر از همه، هدف از این روش‌ها استنباط محتمل‌ترین درخت فیلوژنی توموری است و برای حذف نویز (به دلیل مثال، ترک آلل یا پوشش توالی کم^{۵۰}) از روش‌های همچون بیشینه درست‌نمایی یا حداکثر زوجیت^{۵۱} استفاده می‌کنند. به بیان دیگر این روش‌ها قصد دارند تا یک مساله پارامتری از مرتبه n را حل کنند ولی بدلیل عدم مقیاس‌بندی داده‌های توالی‌یابی تک سلولی به مرتبه‌های بزرگتر، در حل دقیق این مساله ناتوان هستند. حتی وقتی هدف این است که به جای بازسازی کامل درخت فیلوژنی تومور، فقط ویژگی‌های اساسی توپولوژی فیلوژنی تومور را استنباط کنیم، این روش‌ها نمی‌توانند به راحتی داده‌های توالی‌یابی تک سلولی شامل چند صد جهش و سلول را کنترل کنند. در نتیجه، تکنیک‌های سریع برای استنباط ویژگی‌های کلیدی فیلوژنی تومور، به عنوان مثال، مواردی که می‌توانند توپولوژی‌های شاخه‌ای را از هم تفکیک کنند، به ویژه برای مجموعه داده‌های توالی‌یابی تک سلولی با سطح نویز بالا از محبوبیت بیشتری برخوردار هستند. به همین منظور، بهتر است در ابتدا به این سوال پاسخ داده شود که آیا حذف نویز برای ساخت فیلوژنی کامل لازم است یا خیر. سرانجام، هر یک از ابزارهای موجود به تلاش انسانی زیادی در طراحی و اجرای الگوریتمی نیاز داشته است، زیرا هر پیشرفت تکنولوژیکی در تولید داده‌ها، توسعه روش‌های کاملاً جدید را ضروری می‌کند. بنابراین داشتن یک رویکرد محاسباتی کلی که بتواند با تغییر منطقی تکنیکی سازگار شود، صرفاً از طریق آموزش آن با داده‌های جدید، بدون نیاز به مدل‌سازی صریح مشخصات نویز، بسیار مطلوب است.

رفع این محدودیت‌ها از طریق رویکرد یادگیری ماشینی یا رویکردهای "داده محور" امکان پذیر است که مجموعه‌ای کلی از توابع را در نظر گرفته و تابعی را در نهایت انتخاب می‌کند که برآورد بهتری از مجموعه داده‌های آموزشی (دادگان واقعی یا شبیه‌سازی شده) باشد. چنین رویکردی نه تنها می‌تواند از عدم دقت در مدل‌سازی مشخصات نویز بکاهد بلکه الگوهای اساسی ضمنی را در داده‌ها یا مسئله را برای توسعه اهداف واقع بینانه‌تر

⁴⁸Limited loss⁴⁹concordant gain of mutations⁵⁰Low sequence coverage⁵¹Maximum parsimony

شناسایی می‌کند. پیشرفت‌های اخیر در یادگیری عمیق^{۵۲} تعمیم قابل توجهی از فرمول‌بندی‌ها را برای حل بسیاری از مشکلات نشان داده است. [۲۹، ۵، ۱۴]

این امکان وجود دارد که یک معماری یادگیری عمیق، زمانی که بتواند در تعداد کافی مجموعه داده آموزش را دیده باشد، بتواند در استنباط خواص متمایز از فیلوژنی‌های تومور موفق شود. در سالهای اخیر، بسیاری از برنامه‌های محاسباتی، رویکرد الگوریتمی خود را به رویکردهای داده محور تغییر داده‌اند. مانند رمزگشایی متن دست نوشته برای شناسایی رقم [۳] و پردازش زبان طبیعی. [۵]

مسائلی که در بایولوژی ساختار یافته، فرمول‌سازی هدفمند یا کمی‌سازی آنها مشکل است (مانند استنباط ساختار سه بعدی توالی پروتئینی) از روشهای مبتنی بر یادگیری عمیق بسترین استفاده را در جهت حل مسائل خواهند کرد. [۲۸]

با این حال این مقاله، اولین مقاله استنباط درخت فیلوژنی تومور مبتنی بر رویکردهای داده محور است. در این مقاله، اولین روش‌های بازسازی فیلوژنی تومور مبتنی بر داده را برای رفع محدودیت‌های استراتژی‌های موجود ارائه شده است. نویسندگان این مقاله از داده‌های توالی‌یابی تک سلولی در کنار شبکه‌های عصبی عمیق و یادگیری تقویتی برای استنباط ویژگی‌های توپولوژیکی فیلوژنی تومور و همچنین محتمل‌ترین سابقه تکاملی تومور استفاده شده است. برای رسیدن به این هدف، چندین چالش وجود داشت:

۱. شبکه عصبی در حالت ایده‌آل باید طوری طراحی شود که بتواند تعداد متفاوتی از سلول‌ها و جهش‌ها را کنترل کند. متناوباً، برای مدل‌هایی با ورودی‌هایی با اندازه ثابت، بهتر است که از دانش خود در زمینه تهیه داده استفاده شود تا داده‌ها به روشی تهیه شود تا موفقیت در پیش‌بینی‌ها را تسهیل کند.

۲. با توجه به استفاده از شبکه‌های عصبی، برای آموزش مناسب به تعداد زیادی نمونه نیاز است. متأسفانه، تعداد مجموعه داده‌های توالی‌یابی تک سلولی تومور در دسترس عموم برای آموزش مدل‌های یادگیری عمیق به اندازه کافی زیاد نیست. بنابراین، نیاز به تولید تعداد زیادی مجموعه داده شبیه‌سازی شده داده‌های توالی‌یابی تک سلولی وجود دارد.

۳. نویز و خطاهای موجود در داده‌های توالی‌یابی تک سلولی پیچیدگی بیشتری را به این مسئله می‌افزاید و چارچوب پیشنهادی یادگیری عمیق باید از نظر تحمل نویز ارزیابی شود.

۴. معماری انتخاب شده مستلزم نوع خاصی از نظارت است که ما باید قادر به تامین آن باشیم.

⁵²Deep learning

به منظور کاهش یا حذف نویز در ورودی "ماتریس ژنوتیپ" استخراج شده از داده‌های توالی‌یابی تک سلولی، می‌توان نظارت را به صورت مجموعه داده‌ای از ورودی‌های نویزدار به همراه با ورودی‌های بدون نویز ارائه داد. یک نظارت جایگزین و ارزان تر توسط مکانیزم بازخورد^{۵۳} است که تعیین می‌کند که آیا یک خروجی از شبکه عصبی با موفقیت بدون نویز شده است یا خیر. گزینه سوم توسط یک تابع هزینه ارائه می‌شود که به طور غیرمستقیم کمک به نظارت بر فرایند یادگیری تقویتی می‌کند.

در این مقاله با الهام از رویکردهای جدید یادگیری عمیق برای مسائل گوناگون مانند "الگوریتم گرادیان سیاست تقویتی" برای مساله فروشنده دوره گرد^[۳۲]، رویکرد NeuroSAT^[۲۷] برای مساله رضایت‌مندی با استفاده از نظارت تک‌بیتی، یک چارچوب محاسباتی ایجاد شد تا همه چالش‌های فوق را به شرح زیر با موفقیت حل کند.

۱. یک رویکرد مبتنی بر یادگیری تقویتی به منظور آموزش مدلی جهت از بین بردن نویز داده‌ها بدون نیاز به استاندارد مرجع^{۵۴} به کار گرفته شد. تابع هزینه استفاده شده در این مدل یک تابع هزینه خاص برای رفع مساله از بین بردن نویز بود.

$$y = \text{xxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxx}$$

که در آن X ماتریس خروجی ناشی از ورودی A است.

۲. داده‌های ماتریس ورودی، که از مجموعه دادگان نویزی توالی‌یابی تک سلولی استخراج شده، در کنار نرخ نویز و موقعیت مکانی به عنوان ورودی به شبکه داده شده است. این رویکرد در مجموعه دادگانی با سایز متفاوت همچنان کارآمد است و مستقل از جابجایی در سطر و ستون ماتریس ورودی است.

۳. یک مرحله پیش‌پردازش دیتا، به منظور به کارگیری دانش حاصل از تجربه در نظر گرفته شده است تا هر گونه عملکردی را که می‌تواند پیش‌بینی مدل را بهبود بخشد، بر روی داده‌ها اعمال گردد.

۴. داده‌های شبیه‌سازی شده ورودی مدل از طریق یک چاقوربی که راستی‌آزمایی شده است، توسعه یافته است.

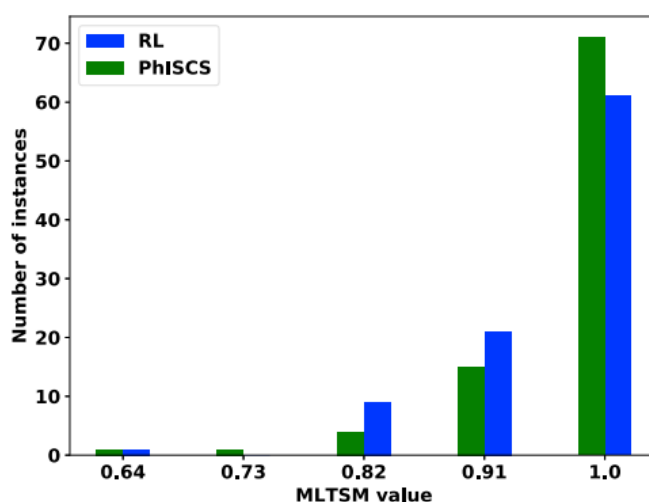
در نمودار ۲۰.۱، میزان دقت عملکرد شبکه در حذف نویز داده ورودی و تاثیر مرحله پیش‌پردازش بر خروجی الگوریتم را مشاهده می‌کنید. همچنین تاثیر میزان نرخ نویزی بودن داده‌ها در خروجی شبکه قابل توجه است.

⁵³feedback

⁵⁴Gold standard

Input MAtrix Size	A	B	Unsorted Acc.	Sorted Acc.
10*10	0.002	0.1	72	90
10*10	$4 * 10^{-4}$	0.02	60	81
25*25	$3.2 * 10^{-4}$	0.016	50	77
25*25	$6.4 * 10^{-4}$	0.0032	52	65

```
ffffffffffffffffffffffff 1.2:
```

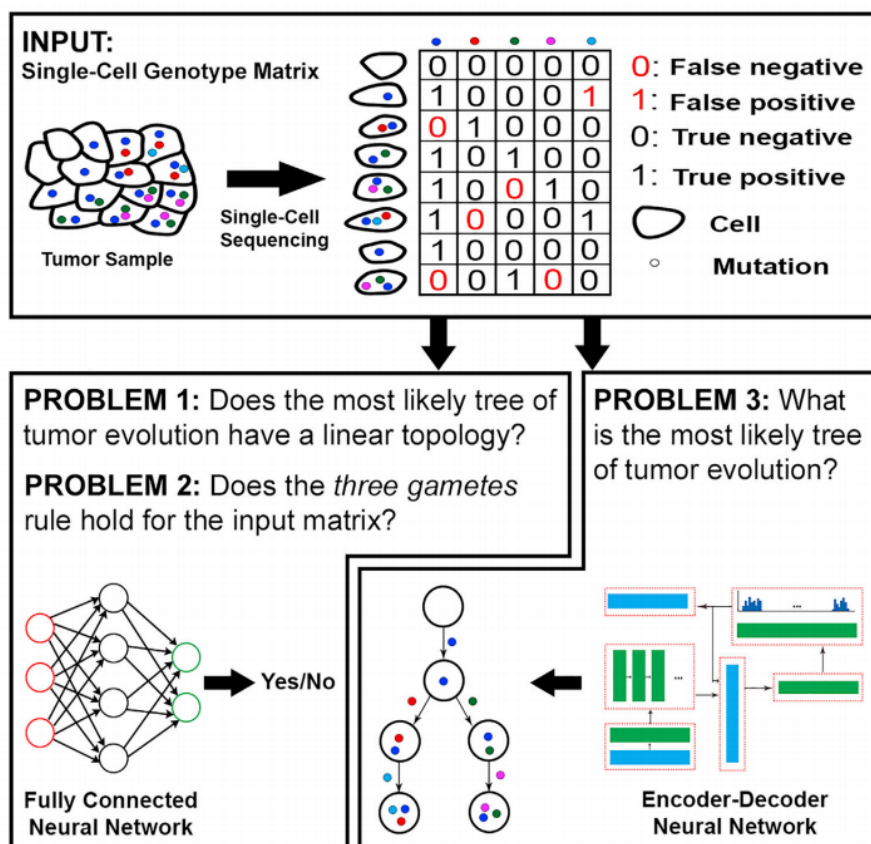


شکل ۲۱.۱: ع

۹.۱ جمع بندی

جهش‌های سوماتیک تومورها در تمام مقیاس‌های ژنومی، از دگرگونی‌های تک‌هسته‌ای (SNV) تا جهش‌های حذف و تغییر تعداد کپی (CNA) وجود دارد. تا به امروز، بیشتر روش‌های ساخت فیلوژنی توموری از داده‌های توالی‌یابی تک سلولی DNA فقط از دگرگونی‌های تک‌هسته‌ای استفاده می‌کردند. [۸، ۲۰، ۱۶، ۳۰] و جهش‌های حذف و تغییر تعداد کپی و در نتیجه اطلاعات مهم استنباط فیلوژنیک تومور را نادیده می‌گرفتند.

وجود ناهمگنی‌های درون توموری باعث ناکارآمدی درمان‌های دارویی تومور می‌شود زیرا که هر یک از این روش‌های درمانی به طور موثر فقط بر روی تعداد محدودی از کلون‌های توموری اثر می‌گذارند و همه این زیرواحی را تحت تاثیر قرار نمی‌دهند. با مطالعه بر روی تومورهای مختلف این امکان حاصل می‌شود تا الگوهای



شکل ۲۲.۱: ع

درون توموری بهتر شناخته شوند و درمان داریی تومور کارآمدتر و بهینه‌تر از گذشته صورت پذیرد. مطالعه بر روی داده‌های توالی‌یابی تک سلولی یکی از زمینه‌های تحقیقاتی است که می‌تواند منجر به افزایش دانش از نحوه شکل‌گیری و تکامل تومور شود. پیدا کردن سیر زمانی تکامل تومور با استفاده از داده‌های توالی‌یابی تک سلولی چالشی است که اخیراً مورد توجه قرار گرفته است که در جدول زیر خلاصه‌ای از روش‌هایی که در این فصل مورد بررسی قرار گرفته‌اند، مشاهده می‌شود.

جدول ۳.۱: Comparison

Method	Dataset	Algorithm	Output	Evaluation Method	Limitation
Kim & Simon approach	Thrombocythemia Essential (TE)	Minimal spanning tree of the Edmonds' algorithm	Phylogenetic tree	Leave one out cross validation	high computational time and excluding uncertainty dataset error
BitPhylogeny	JAK2 negative myeloproliferative	TSSB, MCMC	Evolutionary clonal tree	V measure comparison with K-Centroids and Hierarchical Clustering	High computational time, infinite sites assumption and homozigot heterozigot differentiation
SCITE	JAK2 negative myeloproliferative, clear cell and renal cell carcinoma, estrogen-receptor positive breast cancer	Maximum likelihood, bayesian MCMC	Phylogenetic tree	Better performance in real dataset in comparison with biPhylogeny algorithm	Infinite sites assumption
ONCONEM	Muscle invasive bladder transitional cell carcinoma	Neighbor joining, MCMC	Phylogenetic tree, evolutionary clonal tree	Score function extracted from nested model	Infinite sites assumption, homozigot heterozigot differentiation
SASC	Muscle invasive bladder transitional cell carcinoma, Thrombocythemia Essential (TE) Robust approach based on	Simulated annealing	Phylogenetic tree	Better performance in real dataset in comparison with SCITE algorithm	Limited mutation assumption
SCARLET	sCDNA-seq data from a metastatic colorectal cancer patient	Loss-Supported Phylogeny Model	Phylogenetic tree	Mutation matrix error and pairwise ancestral relationship error	Mutation loss due to the data assumption
DeepPhylo	Acute Lymphoblastic Leukemia, TNBC dataset	Critic-actor reinforcement learning	Phylogenetic tree	Accuracy, maximum likelihood	Fixed input dimension, lack of empirical experiment

فصل ۲

روش پیشنهادی

۱.۲ مقدمه

پس از آشنایی با روش‌های پیشین که برای حل مسئله مشابه مورد استفاده قرار گرفته‌اند، حال می‌توانیم به معرفی و تشریح روش‌های پیشنهادی خود برای حل مسئله پیش رو پردازیم. در این فصل ابتدا داده‌های ورودی مسئله را همراه با فرضیات در نظر گرفته شده بیان می‌کنیم و پس از آن دو روش پیشنهادی متفاوت را بیان خواهیم نمود. در روش اول که به رویکردهای پیشین نزدیک‌تر است با تغییری از جنس روش‌های نوین در مراحل میانی به یک روش جدید می‌رسیم که به علت افزایش سرعت همگرایی می‌توان فرض و داده‌های جدیدی را از طریق حذف و تغییر تعداد کپی به آن افزود و پاسخ گرفت. اما روش دوم کاملاً متفاوت بوده و با رویکردی جدید در حوزه یادگیری ماشین همراه است که به کمک یادگیری تقویتی به حل مسئله مورد نظر می‌پردازد.

۲.۲ معرفی دادگان ورودی

قبل از وارد شدن به بخش روش‌های پیشنهادی نیاز است تا دادگان ورودی را مشخص و معرفی نماییم. دادگان ورودی در این پایان‌نامه همگی به صورت فایل‌های خام اسکی^۱ هستند که حاوی اطلاعات جهش‌های ماتریس ژن-سلول (SNV) و اطلاعات مربوط به حذف و تغییر تعداد کپی هستند.

¹Ascii

در ادامه جدول ۱.۲ را برای معرفی اندیس‌های بکار گرفته شده در روابط مربوط به روش پیشنهادی اول معرفی می‌نماییم.

جدول ۱.۲: اندیس‌های به کار رفته در روابط روش پیشنهادی اول

D	ماتریس داده نویزی در دسترس که مقادیر ۰ و ۱ در آن قرار دارد
E	ماتریس داده حقیقی بدون نویز که به دنبال آن هستیم
T	درخت فیلوژنی جهش‌ها
σ	بردار انتصابات
ϕ	بردار پذیرش فقدان
X_T	ماتریس متناظر درخت T
N	تعداد سلول‌های نمونه
M	تعداد جهش‌ها
\mathcal{N}	مجموعه سلول‌های متمایز از هم
\mathcal{M}	مجموعه جهش‌های متمایز از هم
α	نرخ خطای مثبت کاذب
β	نرخ خطای منفی کاذب

۳.۲ روش پیشنهادی برای مدیریت داده‌های از دست رفته

در ادامه این بخش به معرفی روش‌های پیشنهادی پرداخته خواهد شد اما در ابتدا به دلیل وجود داده‌های از دست رفته در پایگاه‌داده‌های مورد استفاده لازم است تا به بررسی و ارائه رویکردی برای حل این مشکل پرداخته شود و در ادامه پس از معرفی روش پیشنهادی برای مدیریت این داده‌های از دست رفته، هر کدام از روش‌های پیشنهادی به تفصیل شرح داده شود.

همان‌گونه که در داده‌های حقیقی مشاهده شد در پایگاه داده‌های حقیقی ما با اطلاعات از دست رفته مواجه هستیم و به همین دلیل نیز سعی کردیم تا در پایگاه داده مجازی تولید شده نیز به مشابه داده‌های حقیقی، شامل اطلاعات از دست رفته باشد. در این بخش به رویکرد روش محاسبه استاتیک برای مدیریت این داده‌های از دست رفته می‌پردازیم و در بخش بعد به معرفی روشی برای بدست آوردن درخت فیلوژنی پرداخته خواهد شد. همان‌گونه که در ادامه بررسی خواهد شد، این اطلاعات از دست رفته در پایگاه داده‌های مختلف نرخ‌های متفاوتی دارد که

تاثیر این تغییرات نیز در روشی پیشنهادی بررسی خواهد شد.

۱.۳.۲ روش محاسبه استاتیک

در این روش قصد داریم تا به یکباره بتوانیم مقادیر مناسب برای داده‌هایی که از دست رفته‌اند را تخمین بزنیم. در این روش باید توجه شود که ما لزوماً به دنبال جایگذاری مقدار از دست رفته با مقدار درست واقعی نیستیم. اگرچه چنین بیانی در نگاه اول ممکن است تعجب‌آور باشد اما با دقت بیشتر متوجه خواهیم شد که ما در آینده برای خطاهای موجود در پایگاه داده مدل‌سازی‌های محدودی داریم. مدل‌هایی که بهترین آن‌ها نیز ممکن است با واقعیت نویز افزوده شده به دادگان متفاوت باشد. در نتیجه اگر مطمئن بودیم که تمام داده‌هایی که موجود می‌باشند بدون خطا هستند در آن صورت ما نیز به دنبال یافتن جایگذاری با مقدار واقعی بودیم اما در حال حاضر که درصدی از داده‌های در دسترس خود همراه با خطا می‌باشند، ما به دنبال جایگذاری‌ای هستیم که بتواند در مجموع با مدل‌سازی خطایی که در نظر می‌گیریم بیشترین سازگاری را داشته باشد کما اینکه ممکن است در حقیقت جایگزاری اشتباهی انجام داده باشیم. حال با توجه به توضیحی که بیان شد به تشریح این روش می‌پردازیم.

با توجه به فرض مدل مکان‌های بی‌نهایت می‌دانیم که جهش‌های اتفاق افتاده در والد در تمامی نسل‌های آینده باقی خواهد ماند. بنابراین اگر تمامی جهش‌های نمونه (سلول) a در نمونه‌ای دیگر مانند b قرار داشته باشد، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که a یکی از اجداد b خواهد بود. همین فرضیه هسته اصلی روش پیشنهادی در نظر گرفته شده را تشکیل می‌دهد. بنابراین اگر جهش i در سلول a از دست رفته است، با توجه به اینکه آن جهش در سلول b چه وضعیتی دارد می‌توان تصمیم‌گیری کرد. اگر $b(i) = 0$ باشد، در این صورت $a(i)$ حتماً باید ۰ باشد وگرنه فرض اولیه مدل مکان‌های بی‌نهایت نقض خواهد شد. اما اگر $b(i) = 1$ باشد، آنگاه نتیجه خاصی نمی‌توان گرفت و باید به دنبال نمونه والد a یعنی نمونه d باشیم. حال اگر $d(i) = 1$ باشد، آنگاه $a(i)$ حتماً باید ۱ باشد. اما اگر $d(i) = 0$ بود آنگاه انتخاب هر مقداری برای $a(i)$ تقریباً آزاد خواهد بود زیرا با فرض اولیه تناقضی ندارد و اینکه ساختار فیلوژنی را تغییر نمی‌دهد. اما از آنجایی که خود داده‌های در دسترس شامل خطا می‌باشند و هر نمونه‌ای که حاوی اطلاعات از دست رفته است لزوماً یک نواده یا یک والد ندارد، مجموعه‌ای از سلول‌های فرزند یا والد خواهند بود که متناسب با پارمترهای خطایی که در نظر می‌گیریم و فاصله ژنی‌ای که دارند می‌توانند در تصمیم‌گیری تاثیرگذار باشند. صورت دقیق‌تر توضیحات داده شده را می‌توان به صورت فرمولی که در ادامه آمده

است به نمایش درآورد.

در ابتدا تابعی به نام $F_s(D_{ij})$ تعریف می‌کنیم که به نوعی با توجه به ارزشی که به سلول‌های نواده شده از سلول j می‌دهد سعی دارد تا اطمینان \circ بودن داده از دست رفته D_{ij} را بیان کند. برای محاسبه این تابع می‌دانیم که ابتدا سلول‌های مختلف با توجه به احتمال نواده بودنشان باید رتبه‌بندی شوند و وزن بگیرند. پس از آن هر سلول متناسب با ارزش تاثیرگذاری خود می‌تواند در مورد جایگاه جهش i برای سلول j نظر دهد.

$$F_s(D_{ij}) = \sum_{n \in \mathcal{N}} (1 - D_{mj}) \prod_{m=1}^M W(D_{mn}, D_{mj}) \quad (1.2)$$

در فرمول ۱.۲ مجموعه \mathcal{N} برابر با مجموعه سلول‌های متمایز از هم است. زیرا که در بسیاری از پایگاه‌داده‌ها از یک نمونه سلول ممکن است چندین نمونه وجود داشته باشد که وجود آن‌ها باعث بایس در محاسبات ما خواهد شد. همچنین تابع $W_s(c, p)$ به ارزش‌دهی جهش c در برابر p به عنوان نواده بودن می‌پردازد که در فرمول ۲.۲ تعریف شده است.

$$W(c, p) = \begin{cases} 1 & \text{if } c = 1, p = 1 \\ 1 - \xi & \text{if } c = 1, p = \circ \\ \circ & \text{if } c = \circ, p = 1 \\ 1 & \text{if } c = \circ, p = \circ \end{cases} \quad (2.2)$$

مقدار ξ عددی بین $(\circ, 1)$ است که پارامتری در جهت میزان ارزش‌دهی به نوادگان با فواصل مختلف می‌باشد. هرچه این عدد بزرگتر باشد به معنی کم ارزش‌تر شدن نوادگان با فواصل بیشتر است و بالعکس. به همین صورت برای اولاد سلول j نیز می‌توان مشابه حالت قبل عمل کرد که روابط آن به صورت فرمول ۳.۲ خواهد شد.

$$F_a(D_{ij}) = \sum_{n \in \mathcal{N}} D_{mj} \prod_{m=1}^M W(D_{mj}, D_{mn}) \quad (3.2)$$

حال دو نکته در استفاده از روابط بالا باقی خواهد ماند.

نکته اول وجود داده‌های دیگر از دست رفته در محاسبه توابع است که به دو صورت می‌توان با آن‌ها برخورد نمود. رویکرد اول این است که در آن جایگاه ژنی از محاسبه آن خود داری شود و رویکرد دوم استفاده از مقدار ۰/۵ یا فراوانی نسبی آن جهش در محاسبات است که ما رویکرد اول را در این گزارش استفاده خواهیم کرد.

نکته دوم وجود خطا در داده‌هاست. برای مدیریت این مشکل می‌توان با مدل‌سازی خطا که به صورت فرمول ۴.۲ بیان می‌شود، برخورد کرد.

$$\begin{aligned} P(D_{ij} = 1 | E_{ij} = 0) &= \alpha, & P(D_{ij} = 0 | E_{ij} = 0) &= 1 - \alpha \\ P(D_{ij} = 0 | E_{ij} = 1) &= \beta, & P(D_{ij} = 1 | E_{ij} = 1) &= 1 - \beta \end{aligned} \quad (4.2)$$

پس از تعریف مدل‌سازی خطا می‌توان روابط قبلی را مجدداً به صورتی که در ادامه آمده است بازنویسی کرد.

$$W_e(c, p) = \sum_{i, j \in \{0, 1\}} P(c | E_c = i) P(p | E_p = j) W(i, j) \quad (5.2)$$

که در این صورت توابع F_a و F_p نیز به صورت زیر همراه با مدل‌سازی خطا بازتعریف خواهند شد.

$$\begin{aligned} \hat{F}_s(D_{ij}) &= \sum_{n \in \mathcal{N}} [1 - D_{mj}(1 - \alpha)] \prod_{m=1}^M W_e(D_{mn}, D_{mj}) \\ \hat{F}_a(D_{ij}) &= \sum_{n \in \mathcal{N}} D_{mj}(1 - \beta) \prod_{m=1}^M W_e(D_{mj}, D_{mn}) \end{aligned} \quad (6.2)$$

حال پس از محاسبه مقادیر \hat{F}_a و \hat{F}_s می‌توان در مورد داده نامعلوم D_{ij} به صورت فرمول ۷.۲ تصمیم گرفت.

$$D_{ij} = \begin{cases} 0 & \text{if } \hat{F}_s \geq \hat{F}_a \\ 1 & \text{if } \hat{F}_s < \hat{F}_a \end{cases} \quad (7.2)$$

همچنین با کمی دقت در فرمول‌بندی انجام شده اگر برای تمام i, j ‌های ماتریس D این مقادیر توابع \hat{F} محاسبه شوند، خود می‌توانند معیاری برای ارزیابی پایگاه‌داده در دسترس و احتمال درستی فرض مدل مکان‌های بی‌نهایت

باشند.

۱.۱.۳.۲ تصادفی

پرو کردن کاملاً تصادفی میس‌ها. در این روش به صورت تصادفی مقادیر از دست رفته را مقدار دهی می‌کنیم. تنها نکته‌ای که در این روش وجود دارد این است که نباید این پرو کردن تصادفی داده‌های از دست رفته باعث شود تا پارامترهای مدل‌سازی‌ای که از قبل در نظر گرفته بودیم با این روش نادقیق شوند.

۴.۲ روش پیشنهادی اول (درخت‌بازی)

در این روش ما بر حسب بهتر کردن یک پاسخی که از پیش داشتیم به دنبال رسیدن به بهترین پاسخ ممکن در طی تکرار^۲ پشت سر هم هستیم. برای مشخص شدن نحوه کارکرد روش پیشنهادی در مراحل که در ادامه بیان خواهد شد به عنوان مثال یک ماتریس

$$D = \begin{bmatrix} 0 & 1 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 1 \\ 1 & 0 & 1 & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 1 \\ 1 & 0 & 1 & 1 \\ 0 & 1 & 1 & 1 \end{bmatrix} \quad (۸.۲)$$

را به عنوان ورودی مساله به همراه پارامترهای α و β در نظر بگیرید. (برای راحتی کار فرض کرده‌ایم که داده از دست رفته در D نداریم.)

^۲Iteration

۱.۴.۲ پیش‌پردازش

قبل از شروع باید بر روی داده‌ها یک پیش‌پردازش اعمال کنیم که وابسته به سیاست در نظر گرفته شده می‌تواند باعث تغییر در پاسخ نهایی نیز شود. به این منظور داده‌هایی که miss شده‌اند با روش‌های زیر می‌تواند برای ورود به مرحله بعد تخمین زده شود. به صورت تصادفی

۲.۴.۲ اولین پاسخ (درخت تصادفی)

همان‌گونه که از قبل می‌دانستیم خروجی نهایی ما برابر با درختی خواهد بود که نودهای آن برابر با جهش‌های ماتریس ورودی ما و برگ‌های آن برابر با نمونه‌های مشاهده شده خواهند بود. در روش پیشنهادی اول ما به دنبال بهتر کردن این درخت به عنوان پاسخ هستیم. از این رو پایه این روش پیشنهادی اول بر مبنای بهتر کردن پاسخ فعلی بنا نهاده شده است. در نتیجه ما همواره پاسخی به عنوان جواب نهایی داریم که تلاش خواهیم نمود تا با استفاده از ابزارهایی بتوانیم ابا ایجاد تغییری در این پاسخ به پاسخی جدید برسیم که قابل مقایسه با پاسخ فعلی برای انجام مراحل بعدی باشد.

با توجه به توضیحاتی که داده شد ما برای شروع الگوریتم پیشنهادی اول خود نیاز به یک پاسخ داریم. این پاسخ که درخت فیلوژنی هست با توجه پارامترهای ورودی و انتخاب یک نود ($root$ به عنوان ریشه این درخت به صورت زیر حاصل می‌شود.

$$\mathcal{M} = \{1 \dots M\} \quad (9.2)$$

$$\hat{B}_{T_1} = [R_1(\mathcal{M} - \{1\}), R_2(\mathcal{M} - \{2\}), \dots, R_{root}(\{\}), \dots, R_M(\mathcal{M} - \{M\})]$$

که در این رابطه \mathcal{M} برابر با مجموعه تمامی جهش‌های متمایز از شماره ۱ تا M است و \hat{B} مشخص‌کننده نود پدر درخت برای جهش i ام در این لیست خود است که توسط تابع $R_i(X)$ به صورت کاملاً یکنواخت^۳ از اعضای مجموعه X انتخاب می‌شود.

با توجه به مثالی که در رابطه ۸.۲ زده شد فرض کنید مقدار بردار \hat{B} با ریشه ۲ $root = 2$ به صورت رابطه ۱۰.۲

^۳Uniform

شود.

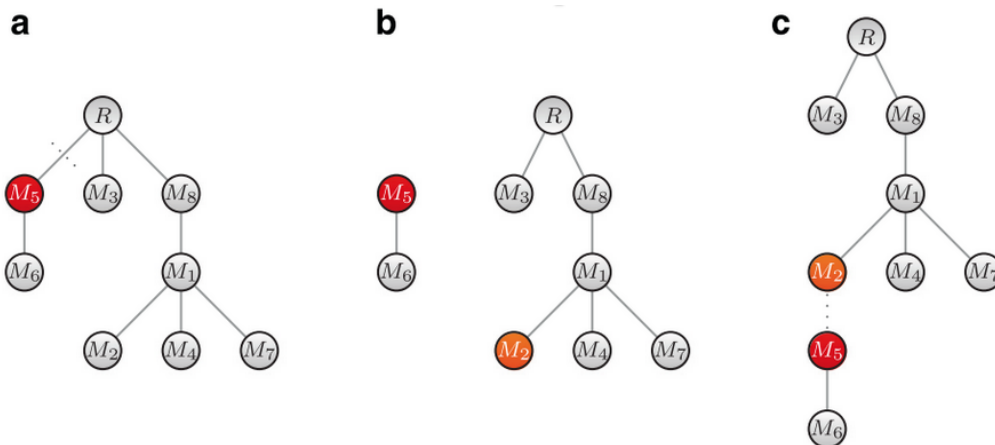
$$\hat{B} = [2, 1, -, 0] \quad (10.2)$$

که درخت شکل ۱۰.۲ را نتیجه می‌دهد.

شکل ۱۰.۲: درخت تصادفی اول

۳.۴.۲ پاسخ جدید

تا به اینجا ما یک درخت فیلوژنی به عنوان پاسخ داریم که در این بخش می‌خواهیم با انجام تغییراتی بر روی آن به یک پاسخ جدید برسیم تا در گام‌های بعدی بتوانیم با مقایسه آن‌ها تصمیمات لازم را برای ادامه الگوریتم بگیریم. به همین منظور تقریباً مشابه با روش [۴] به صورت هرس و اتصال دوباره^۴ قصد داریم تا درخت پاسخ فعلی را برای رسیدن به یک پاسخ دیگر تغییر دهیم. در شکل ۲.۲ مثالی از این روش آورده شده است. در این



شکل ۲.۲: نحوه انجام کار روش هرس و اتصال دوباره [۴].

شکل مطابق با قسمت a یکی از نودهای درخت (به جز ریشه) انتخاب می‌شود (در اینجا نود M_5) و اتصال از پدرش قطع می‌شود. در این حالت به دو درخت مشابه با شکل b می‌رسیم. حال در درخت باقی مانده یک نود

⁴Prune and reattach

دیگر (M_2) به عنوان پدری جدید انتخاب می‌شود تا با این تغییر به درخت جدید شکل C برسیم. در نتیجه با این تکنیک می‌توان به پاسخ‌های جدید رسید اما سوالی که باقی ماند این است که این دو نود چگونه باید انتخاب شوند؟ این دو انتخاب به صورت هوشمند توسط دو شبکه عمیق گرفته می‌شود. این شبکه‌ها که در اصل شبکه‌های یادگیری تقویتی^۵ عمیق هستند، از پیش برای این منظور آموزش داده شده‌اند. شبکه اول برای انتخاب محل برش (هرس) مورد استفاده قرار می‌گیرد و شبکه دوم با دریافت خروجی xxxxxx دو درخت راهبر-پیرو^۶ مکان‌های مناسب برای بازاتصال را ارزش‌گذاری می‌کند. این دو شبکه در قسمت‌های ۷.۴.۲ و ۸.۴.۲ به تفصیل شرح داده شده‌اند.

۴.۴.۲ مقایسه و ارزیابی پاسخ‌ها

پس از اینکه از پاسخ فعلی به یک پاسخ جدید رسیدیم حال می‌توان کیفیت این دو پاسخ را باهم مقایسه کرد و پس از آن با توجه به امتیاز دو پاسخ در مورد پذیرش یا عدم پذیرش پاسخ جدید در برابر پاسخ فعلی تصمیم گرفت. این فرآیند شامل دو بخش اصلی است که در دو زیربخشی که در ادامه آمده است بیان شده‌اند.

۱.۴.۴.۲ تبدیل درخت پاسخ به ماتریس

برای ادامه روش پیشنهادی و مقایسات لازم است تا درخت پاسخ را به ماتریس X تبدیل کنیم که قابل بررسی با داده‌های مشاهده شده D باشد. ماتریس X مشابه با ماتریس D متشکل از مقادیر ۰ و ۱ خواهد بود که به عنوان مثال $X_{i,j} = 1$ به این معنی است که طبق درخت T در سلول i جهش j مشاهده نشده است. ما هر درخت T را می‌توانیم با مقادیر مختلفی از σ و ρ مزین کنیم و به ماتریس‌های مختلفی برسیم. اما در نهایت مهمترین پارامترها که بیشترین امتیاز را برای درخت ما بوجود می‌آورند مطلوب ما خواهند بود و ماتریس متناظر با آن حالت را X می‌نامیم و به مراحل بعدی برای محاسبات انتقال می‌دهیم. در نتیجه کار ما در این بخش این خواهد بود که به ازای درخت دلخواه T بتوانیم بهترین σ و ρ را بدست آوریم و از روی آن‌ها ماتریس متناظر X را بدست آوریم. از پیش با بررسی پروفایل‌های شماره کپی^۷ در بخش ۵.۴.۲ به \mathcal{L} رسیده‌ایم که مشخص می‌کند چه جهش‌هایی پتانسیل حذف را دارند و در این بخش زمان استفاده از این اطلاعات است. در ادامه ماتریس A را به صورت رابطه

^۵Reinforcement learning

^۶Master-slave

^۷Copy number profile

۱۴.۲ تعریف می‌کنیم که برای انتخاب بهینه σ مورد استفاده قرار خواهد گرفت.

$$A_{i,j} = \begin{cases} 1 & \text{if } i \text{ یکی از نوادگان } j \text{ باشد که در } \mathcal{L} \text{ نباشد} \\ x & \text{if } i \text{ یکی از نوادگان } j \text{ باشد و همچنین در } \mathcal{L} \text{ باشد} \\ 0 & \text{if در صورتی که دو مورد قبلی نباشد} \end{cases} \quad (11.2)$$

در رابطه بیان شده x به معنای این است که هم می‌تواند مقدار ۰ و هم مقدار ۱ را داشته باشد. حال می‌توانیم برای هر سلول (نمونه) c_i در ماتریس مشاهده شده D امتیاز اتصال را در هر قسمت از درخت T حساب می‌کنیم که از طریق رابطه ۱۲.۲ بدست می‌آید.

$$S(c_i, T, k) = \prod_{j=0}^M P(D_{i,j} | A_{j,k}) \quad (12.2)$$

در این رابطه $S(c_i, T, k)$ برابر امتیاز اتصال نمونه i در درخت T در مکان ژن (جهش) k است. ناگفته نماند که،

$$P(D = 1 | A = x) = 1 - \beta, \quad P(D = 0 | A = x) = 1 - \alpha \quad (13.2)$$

بنابراین به ازای هر x ما دو حالت را می‌توانیم داشته باشیم که آن‌ها همان پذیرش یا عدم پذیرش حذف جهش‌های در مجموعه \mathcal{L} است. برای اینکه بهترین σ را داشته باشیم باید بتوانیم این امتیازاتی که با پذیرش‌های مختلف x بدست می‌آیند را به ازای تمام نمونه‌های در دسترس ثبت و بررسی کنیم. برای این منظور هر نمونه

$$B_{i,j} = \begin{cases} 1 & \text{if } i \text{ یکی از نوادگان } j \text{ باشد که در } \mathcal{L} \text{ نباشد} \\ x & \text{if } i \text{ یکی از نوادگان } j \text{ باشد و همچنین در } \mathcal{L} \text{ باشد} \\ 0 & \text{if در صورتی که دو مورد قبلی نباشد} \end{cases} \quad (14.2)$$

$$S(c_i, T) = \arg \max_{j^*} \left(\prod_{k=0}^M P(D_{i,k} | A_{k,j^*}) \right) \quad (15.2)$$

۵.۴.۲ یافتن جهش‌های با پتانسیل حذف

همان‌گونه که از ابتدا می‌دانیم ما به دنبال درخت فیلوژنی حقیقی داده‌های نویزی مشاهده شده D هستیم. این درخت در این روش برابر با درختی است که،

- نحوه قرارگیری ژن‌ها در ساختار درخت (T)

- محل‌هایی در درخت که جهش‌های قبلی در آن‌ها حذف می‌شوند (ϕ)

- نحوه انتصاب نمونه‌های مشاهده شده به درخت (σ)

- و در نهایت پارامترهایی که برای مدل‌سازی خطای بوجود آمده در داده‌های در دسترس مان تعیین شده است (θ)

به گونه‌ای انتخاب شوند که محتمل‌ترین حالت را برای مشاهده داده‌های D بوجود آورند که در این حالت ما رابطه علت توضیحات مجدد این موارد به این دلیل است که این بخش مهمترین بخش در ساختار روش پیشنهادی اول است.

۱.۵.۴.۲ مقایسه پاسخ فعلی با پاسخ آرمانی

پس از استخراج ماتریس مناسب از درخت می‌توان به ارزش‌گذاری و محاسبه درست‌نمایی پرداخت. این عمل به صورت رابطه ۱۶.۲ محاسبه می‌شود.

$$L : P(D|T, \sigma, \phi, \theta) = \prod_{n=1}^{n=N} \prod_{m=1}^{m=M} P(D_{nm} | X_{nm}) \quad (16.2)$$

که X برابر ماتریس بدست آمده از درخت T با توجه به بردارهای σ و \wp است. این رابطه بیانگر احتمال مشاهده ماتریس داده ورودی D در صورتی است که درخت فیلوژنی صحیح T و پارامترهای حقیقی θ باشد که توسط بردارهای σ و \wp تثبیت شده است. هرچه این احتمال بالاتر باشد نمایانگر این است که درخت، پارامترها و بردارهای کنترلی ما بگونه‌ای انتخاب شده‌اند که محتمل‌ترین حالت برای مشاهده داده‌های ورودی ما هست و در این صورت بهترین پاسخ برای ما همان پاسخی خواهد بود که محتمل‌ترین باشد. از این رو با دانستن θ ما به دنبال T ‌ای به همراه بردارهای مربوطه آن هستیم که پاسخ رابطه باشد.

$$(T, \sigma, \wp)_{\text{ML}} = \arg \max_{(T, \sigma, \wp)} P(D|T, \sigma, \wp, \theta) \quad (۱۷.۲)$$

اما همانگونه که می‌دانیم ما به دنبال بهترین درخت T هستیم که σ و \wp در آن درخت برای ما اهمیت دارند. در واقع هر درخت T دارای امتیاز $S(T)$ است که به صورت رابطه تعریف می‌شود.

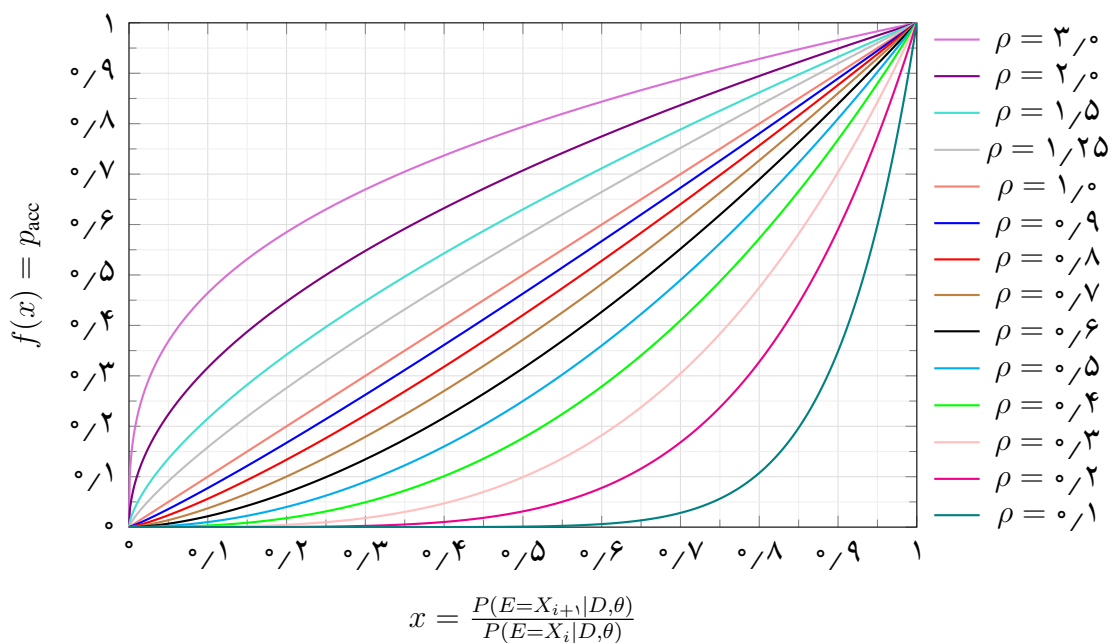
$$S(T) = P(D|T, \sigma^*, \wp^*), \quad \sigma^* = \arg \max_{\sigma} P(D|T, \sigma, \wp) \quad (۱۸.۲)$$

۶.۴.۲ پذیرش پاسخ‌های جدید و یافتن بهترین پاسخ

در این مرحله ما دو پاسخ با امتیازهایشان در اختیار داریم که می‌توانیم برحسب آن‌ها برای ورود به تکرار بعد تصمیم‌گیری نماییم. این فرآیند توسط رابطه‌ای که در ادامه آمده است انجام می‌شود.

$$p_{\text{acc}} = \min \left[1, \left(\frac{P(E = X_{i+1}|D, \theta)}{P(E = X_i|D, \theta)} \right)^{\rho^{-1}} \right] \quad (۱۹.۲)$$

در رابطه ۱۹.۲، اگر پاسخ جدید بهتر از پاسخ فعلی باشد بیان می‌کند که افزایش بهینگی در پاسخ جدید باعث می‌شود تا صورت کسر مقداری بیش از منخرج بگیرد که در این صورت p_{acc} که برابر با احتمال پذیرش پاسخ جدید است، برابر ۱ خواهد شد که یعنی حتما پاسخ جدید به عنوان پاسخ پابرجا برای ورود به تکرار بعد در نظر گرفته می‌شود. اما اگر پاسخ جدید (درخت جدید) بهتر از پاسخ فعلی ارزیابی نشود ما آن را مستقیماً رد نمی‌کنیم و به احتمالی کمتر از ۱ ممکن است آن را بپذیریم. دلیل این پذیرش جلوگیری از به دام افتادن الگوریتم در پاسخ‌مان



شکل ۳.۲: نمودار تغییر احتمال پذیرش پاسخ جدید نامطلوب‌تر با توجه به مقدار پارامتر ρ .

در بیشینه‌های محلی^۸ است. در شکل تاثیر تغییر پارامتر ρ در احتمال پذیرش پاسخ‌های جدیدی که مطلوب‌تر از پاسخ فعلی نیستند نمایش داده شده است.

⁸Local maxima

۷.۴.۲ شبکه هرس‌کننده

۸.۴.۲ شبکه بازاتصال‌کننده

۹.۴.۲ جمع‌بندی

روش پیشنهادی ما الگو گرفته شده از روش ارائه شده در مقاله سایت بود اما با این تفاوت که در آنجا فرض مکان‌های بی‌نهایت بود ولی ما فرض اسکارلت را جایگزین کردیم که در این بین چون فضای جست و جو بزرگتر شد در نتیجه مجبور شدیم نحوه برداشتن گام‌های خود را تغییر بدیم و هوشمندانه تر جلو برویم که در این فضای بزرگتر بتوانیم به جواب مناسب برسیم. در سایت برای رسیدن به درخت بهتر به دنبال تنظیم کردن پارامترهای خطا بود در حالی که ممکن بود با جواب واقعی فاصله داشته باشد اما چون بدنبال جواب با امتیاز بالا بود در نتیجه این پارامتری بودن و جست و جو برای مقادیر بهینه خطا در روش آن وجود داشت اما ما برای بهتر کردن امتیاز به جای تغییر پارامترهای خطا به ازای یک درخت جست و جوی ضمیمه کردن‌های مختلف سلول‌ها و لاس شدن جهش‌ها را جست و جو میکنیم.

در این مقاله الگوریتم scarlet معرفی شد که در آن به طور همزمان از دگرگونی تک هسته‌ای (SNV) و جهش‌های حذف و تغییر تعداد کپی (CNA) از داده‌های توالی‌یابی تک سلولی برای استنباط فیلوژنی تومور استفاده شد. این الگوریتم، یک مدل تکاملی بر اساس در نظر گرفتن خطای ناشی از حذف جهش است که حذف جهش‌ها را محدود به مکان‌هایی می‌کند که شواهدی از حذف جهش‌های حذف و تغییر تعداد کپی موجود باشد. مدل‌های فیلوژنی با در نظر گرفتن حذف خطا، با استفاده از اطلاعات جهش‌های حذف و تغییر تعداد کپی که به آسانی در داده‌های دگرگونی تک هسته‌ای موجود است، نسب به مدل‌های دولو یا فرض مکان‌های بی‌نهایت، ابهام کمتری در استنباط درخت فیلوژنی دارند. اگر چه به صورت طبیعی در داده‌های دگرگونی تک هسته‌ای یک عدم قطعیت ذاتی در حضور یا عدم حضور جهش در سلول‌ها وجود دارد، اما کاهش میزان ابهام در استنباط فیلوژنی تومور منجر به افزایش دقت فیلوژنی استنباط شده است. در این مقاله نشان داده شد که فیلوژنی توموری استنباط شده برای بیماران مبتلا به سرطان روده از دقت و تکرارپذیری بیشتری برخوردار است و این الگوریتم در نهایت فیلوژنی‌هایی را استنباط کرد که در آن ۳ حذف جهش رخ داده بود. البته این الگوریتم محدودیت‌های خاص خود را دارد. به عنوان مثال، این نوع پیاده‌سازی از الگوریتم اسکارلت مستلزم درخت حذف و تغییر تعداد کپی به عنوان ورودی و میزان درست‌نمایی هر یک از این درختان است. این رویکرد در مواقعی که تعداد مشخصی از تغییرات تعداد کپی وجود دارد قابل اجراست اما هنگامی که داده‌های توالی‌یابی تک سلولی در مقیاس بزرگ انجام شود، به درختان زیادی از جهش‌های حذف و تغییر تعداد کپی نیاز خواهد بود.

۵.۲ روش پیشنهادی دوم

۱.۵.۲ مقدمه

۲.۵.۲ دادگان ورودی

۳.۵.۲ تبدیل داده‌ها به بردار ویژگی

۴.۵.۲ مدل‌سازی مساله

۱.۴.۵.۲ معماری شبکه

۵.۵.۲ تابع هزینه

۶.۵.۲ اصلاح خطا و یافتن درخت جواب

۶.۲ نتیجه‌گیری

جدول ۲.۲: پارامترهای مدل ریاضی

زمان خدمت‌دهی به بیمار در مرحله k ام	t_{ik}
زمان فاری خدمت‌دهی به بیمار در مرحله k ام	\tilde{t}_{ik}
مقدار بدبینانه (حداکثر) برای زمان خدمت‌دهی به بیمار در مرحله k ام	t_{ik}^p
محتمل‌ترین مقدار برای زمان خدمت‌دهی به بیمار در مرحله k ام	t_{ik}^m
مقدار خوشبینانه (حداقل) برای زمان خدمت‌دهی به بیمار در مرحله k ام	t_{ik}^o

جدول ۳.۲: متغیرهای مدل ریاضی

متغیر صفر-یک تخصیص بیمار به تخت/اتاق عمل	X_{ild_k}
زمان شروع خدمت دهی به بیمار	S_{ild_k}
متغیر صفر-یک توالی بیماران	Y_{ijkl_k}
متغیر صفر-یک تخصیص جراح به بیمار	V_{ni}

مراجع

- [1] Azer, Erfan Sadeqi, Ebrahimabadi, Mohammad Haghiri, Malikić, Salem, Khardon, Roni, and Sahinalp, S Cenk. Tumor phylogeny topology inference via deep learning. *Iscience*, 23(11):101655, 2020.
- [2] Beerenwinkel, Niko, Schwarz, Roland F, Gerstung, Moritz, and Markowetz, Florian. Cancer evolution: mathematical models and computational inference. *Systematic biology*, 64(1):e1–e25, 2015.
- [3] Ciregan, Dan, Meier, Ueli, and Schmidhuber, Jürgen. Multi-column deep neural networks for image classification. In *2012 IEEE conference on computer vision and pattern recognition*, pages 3642–3649. IEEE, 2012.
- [4] Davis, Alexander and Navin, Nicholas E. Computing tumor trees from single cells. *Genome biology*, 17(1):1–4, 2016.
- [5] Devlin, Jacob, Chang, Ming-Wei, Lee, Kenton, and Toutanova, Kristina. Bert: Pre-training of deep bidirectional transformers for language understanding. *arXiv preprint arXiv:1810.04805*, 2018.
- [6] Donmez, Nilgun, Malikić, Salem, Wyatt, Alexander W, Gleave, Martin E, Collins, Colin C, and Sahinalp, S Cenk. Clonality inference from single tumor samples using low coverage sequence data. In *International Conference on Research in Computational Molecular Biology*, pages 83–94. Springer, 2016.
- [7] Eaton, Jesse, Wang, Jingyi, and Schwartz, Russell. Deconvolution and phylogeny inference of structural variations in tumor genomic samples. *Bioinformatics*, 34(13):i357–i365, 2018.
- [8] El-Kebir, Mohammed. Sphyr: tumor phylogeny estimation from single-cell sequencing data under loss and error. *Bioinformatics*, 34(17):i671–i679, 2018.

- [9] El-Kebir, Mohammed, Oesper, Layla, Acheson-Field, Hannah, and Raphael, Benjamin J. Reconstruction of clonal trees and tumor composition from multi-sample sequencing data. *Bioinformatics*, 31(12):i62–i70, 2015.
- [10] Hou, Yong, Song, Luting, Zhu, Ping, Zhang, Bo, Tao, Ye, Xu, Xun, Li, Fuqiang, Wu, Kui, Liang, Jie, Shao, Di, et al. Single-cell exome sequencing and monoclonal evolution of a jak2-negative myeloproliferative neoplasm. *Cell*, 148(5):873–885, 2012.
- [11] Husić, Edin, Li, Xinyue, Hujdurović, Ademir, Mehine, Miika, Rizzi, Romeo, Mäkinen, Veli, Milanič, Martin, and Tomescu, Alexandru I. Mipup: minimum perfect unmixed phylogenies for multi-sampled tumors via branchings and ilp. *Bioinformatics*, 35(5):769–777, 2019.
- [12] Jahn, Katharina, Kuipers, Jack, and Beerenwinkel, Niko. Tree inference for single-cell data. *Genome biology*, 17(1):1–17, 2016.
- [13] Kim, Kyung In and Simon, Richard. Using single cell sequencing data to model the evolutionary history of a tumor. *BMC bioinformatics*, 15(1):1–13, 2014.
- [14] Liu, Yinhan, Ott, Myle, Goyal, Naman, Du, Jingfei, Joshi, Mandar, Chen, Danqi, Levy, Omer, Lewis, Mike, Zettlemoyer, Luke, and Stoyanov, Veselin. Roberta: A robustly optimized bert pretraining approach. *arXiv preprint arXiv:1907.11692*, 2019.
- [15] Malikic, Salem, Jahn, Katharina, Kuipers, Jack, Sahinalp, S Cenk, and Beerenwinkel, Niko. Integrative inference of subclonal tumour evolution from single-cell and bulk sequencing data. *Nature communications*, 10(1):1–12, 2019.
- [16] Malikic, Salem, McPherson, Andrew W, Donmez, Nilgun, and Sahinalp, Cenk S. Clonality inference in multiple tumor samples using phylogeny. *Bioinformatics*, 31(9):1349–1356, 2015.
- [17] Malikic, Salem, Mehrabadi, Farid Rashidi, Azer, Erfan Sadeqi, Ebrahimabadi, Mohammad Haghir, and Sahinalp, S Cenk. Studying the history of tumor evolution from single-cell sequencing data by exploring the space of binary matrices. *bioRxiv*, 2020.
- [18] Malikic, Salem, Mehrabadi, Farid Rashidi, Ciccolella, Simone, Rahman, Md Khaledur, Ricketts, Camir, Haghshenas, Ehsan, Seidman, Daniel, Hach, Faraz, Hajirasouliha, Iman, and Sahinalp, S Cenk. Phiscs: a combinatorial approach for subperfect tumor phylogeny reconstruction via integrative use of single-cell and bulk sequencing data. *Genome research*, 29(11):1860–1877, 2019.
- [19] McGranahan, Nicholas and Swanton, Charles. Clonal heterogeneity and tumor evolution: past, present, and the future. *Cell*, 168(4):613–628, 2017.

- [20] McPherson, Andrew, Roth, Andrew, Laks, Emma, Masud, Tehmina, Bashashati, Ali, Zhang, Allen W, Ha, Gavin, Biele, Justina, Yap, Damian, Wan, Adrian, et al. Divergent modes of clonal spread and intraperitoneal mixing in high-grade serous ovarian cancer. *Nature genetics*, 48(7):758, 2016.
- [21] Ricketts, Camir, Seidman, Daniel, Popic, Victoria, Hormozdiari, Fereydoun, Batzoglou, Serafim, and Hajirasouliha, Iman. Meltos: multi-sample tumor phylogeny reconstruction for structural variants. *Bioinformatics*, 36(4):1082–1090, 2020.
- [22] Ross, Edith M and Markowetz, Florian. Onconem: inferring tumor evolution from single-cell sequencing data. *Genome biology*, 17(1):1–14, 2016.
- [23] Sadeqi Azer, Erfan, Rashidi Mehrabadi, Farid, Malikić, Salem, Li, Xuan Cindy, Bartok, Osnat, Litchfield, Kevin, Levy, Ronen, Samuels, Yarden, Schäffer, Alejandro A, Gertz, E Michael, et al. Phiscs-bnb: a fast branch and bound algorithm for the perfect tumor phylogeny reconstruction problem. *Bioinformatics*, 36(Supplement_1):i169–i176, 2020.
- [24] Salehi, Sohrab, Steif, Adi, Roth, Andrew, Aparicio, Samuel, Bouchard-Côté, Alexandre, and Shah, Sohrab P. ddclone: joint statistical inference of clonal populations from single cell and bulk tumour sequencing data. *Genome biology*, 18(1):1–18, 2017.
- [25] Satas, Gryte and Raphael, Benjamin J. Tumor phylogeny inference using tree-constrained importance sampling. *Bioinformatics*, 33(14):i152–i160, 2017.
- [26] Satas, Gryte, Zaccaria, Simone, Mon, Geoffrey, and Raphael, Benjamin J. Scarlet: Single-cell tumor phylogeny inference with copy-number constrained mutation losses. *Cell Systems*, 10(4):323–332, 2020.
- [27] Selsam, Daniel, Lamm, Matthew, Bünz, Benedikt, Liang, Percy, de Moura, Leonardo, and Dill, David L. Learning a sat solver from single-bit supervision. *arXiv preprint arXiv:1802.03685*, 2018.
- [28] Senior, Andrew W, Evans, Richard, Jumper, John, Kirkpatrick, James, Sifre, Laurent, Green, Tim, Qin, Chongli, Žídek, Augustin, Nelson, Alexander WR, Bridgland, Alex, et al. Improved protein structure prediction using potentials from deep learning. *Nature*, 577(7792):706–710, 2020.
- [29] Silver, David, Schrittwieser, Julian, Simonyan, Karen, Antonoglou, Ioannis, Huang, Aja, Guez, Arthur, Hubert, Thomas, Baker, Lucas, Lai, Matthew, Bolton, Adrian, et al. Mastering the game of go without human knowledge. *nature*, 550(7676):354–359, 2017.

- [30] Singer, Jochen, Kuipers, Jack, Jahn, Katharina, and Beerenwinkel, Niko. Single-cell mutation identification via phylogenetic inference. *Nature communications*, 9(1):1–8, 2018.
- [31] Strino, Francesco, Parisi, Fabio, Micsinai, Mariann, and Kluger, Yuval. Trap: a tree approach for fingerprinting subclonal tumor composition. *Nucleic acids research*, 41(17):e165–e165, 2013.
- [32] Williams, Ronald J. Simple statistical gradient-following algorithms for connectionist reinforcement learning. *Machine learning*, 8(3-4):229–256, 1992.
- [33] Wu, Yufeng. Accurate and efficient cell lineage tree inference from noisy single cell data: the maximum likelihood perfect phylogeny approach. *Bioinformatics*, 36(3):742–750, 2020.
- [34] Yuan, Ke, Sakoparnig, Thomas, Markowetz, Florian, and Beerenwinkel, Niko. Bitphylogeny: a probabilistic framework for reconstructing intra-tumor phylogenies. *Genome biology*, 16(1):1–16, 2015.
- [35] Zaccaria, Simone, El-Kebir, Mohammed, Klau, Gunnar W, and Raphael, Benjamin J. The copy-number tree mixture deconvolution problem and applications to multi-sample bulk sequencing tumor data. In *International Conference on Research in Computational Molecular Biology*, pages 318–335. Springer, 2017.
- [36] Zafar, Hamim, Navin, Nicholas, Chen, Ken, and Nakhleh, Luay. Siclonet: Bayesian inference of population structure, genotype, and phylogeny of tumor clones from single-cell genome sequencing data. *Genome research*, 29(11):1847–1859, 2019.
- [37] Zafar, Hamim, Tzen, Anthony, Navin, Nicholas, Chen, Ken, and Nakhleh, Luay. Sifit: inferring tumor trees from single-cell sequencing data under finite-sites models. *Genome biology*, 18(1):1–20, 2017.