تشخیص واریانت های ساختاری مربوط به ژنوم سرطان

استاد راهنما: سرکار خانم دکتر کیفی
تهیه کننده: فاطمه مولودی

پاییز97

مرکز آموزش عالی علوم پزشکی وارستگان

فهرست

مقدمه

- جهش
- انواع جهش

روش های تشخیصی ژنوم سرطان

- کاریوتایپ
- تکنیک FISH
- تکنیک Array CGH
- NGS

نتیجه گیری

مرکز آموزش عالی علوم پزشکی وارسگان

فهرست اختصارات:

FISH: fluorescent in situ hybridization

micro CGH: Array comparative genomic hybridization

NGS: next generation sequencing

SV s: تغییرات ساختاری

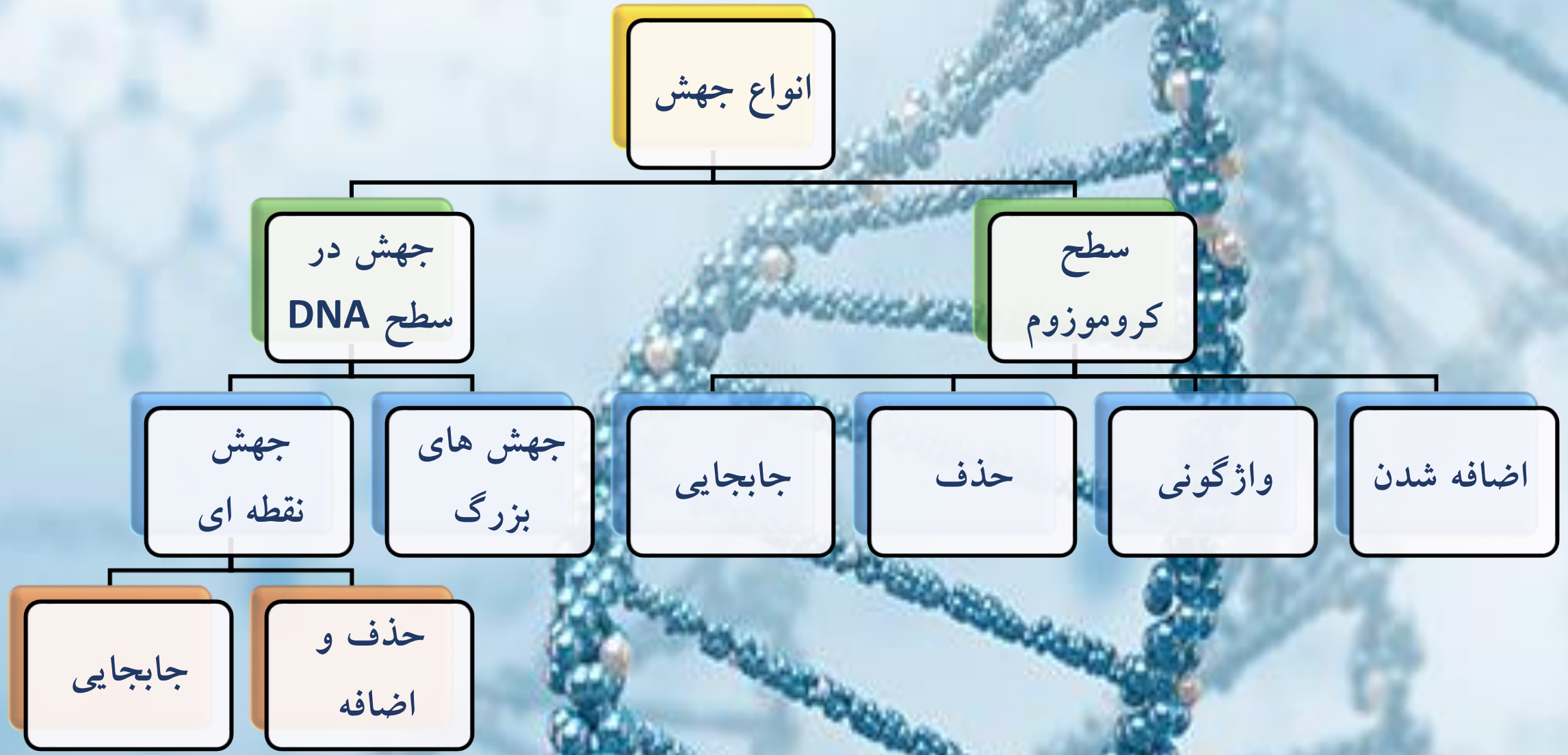
مرکز آموزش عالی علوم پزشکی وارسگان

➢ **جهش:**

یک تغییر ژنتیکی است که صفات زیستی بعضی از افراد یک گونه را تغییر میدهد

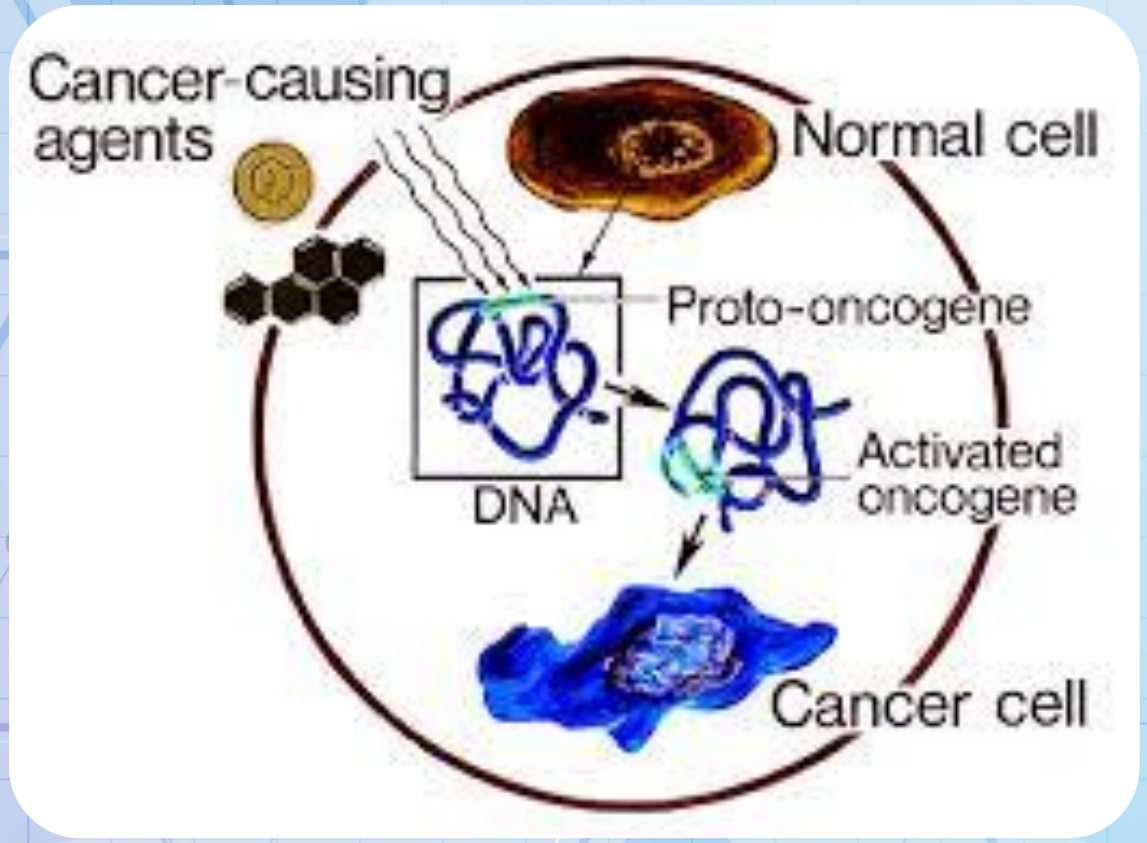
❖در هریک از فعالیت های سلولی نظیر فرآیند های همانندسازی، رونویسی، ترجمه، ترکیب مجدد یا نوترکیبی کروموزوم ها و بروز و ظهور اطلاعات ژنتیکی احتمال خطا و اشتباه وجود دارد.

مرکز آموزش عالی علوم پزشکی وارستگان



مرکز آموزش عالی علوم پزشکی وارستگان

ژنوم سرطان



SVs

مرکز آموزش عالی علوم پزشکی وارسگان

روش های تشخیصی

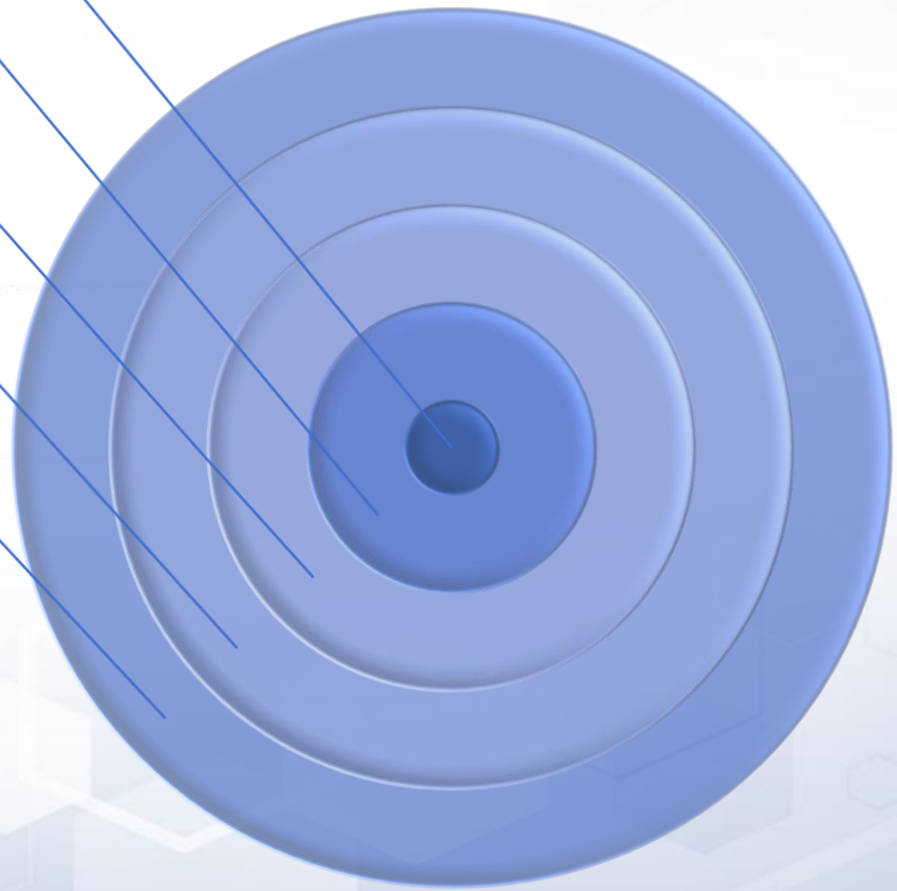
NGS

FISH

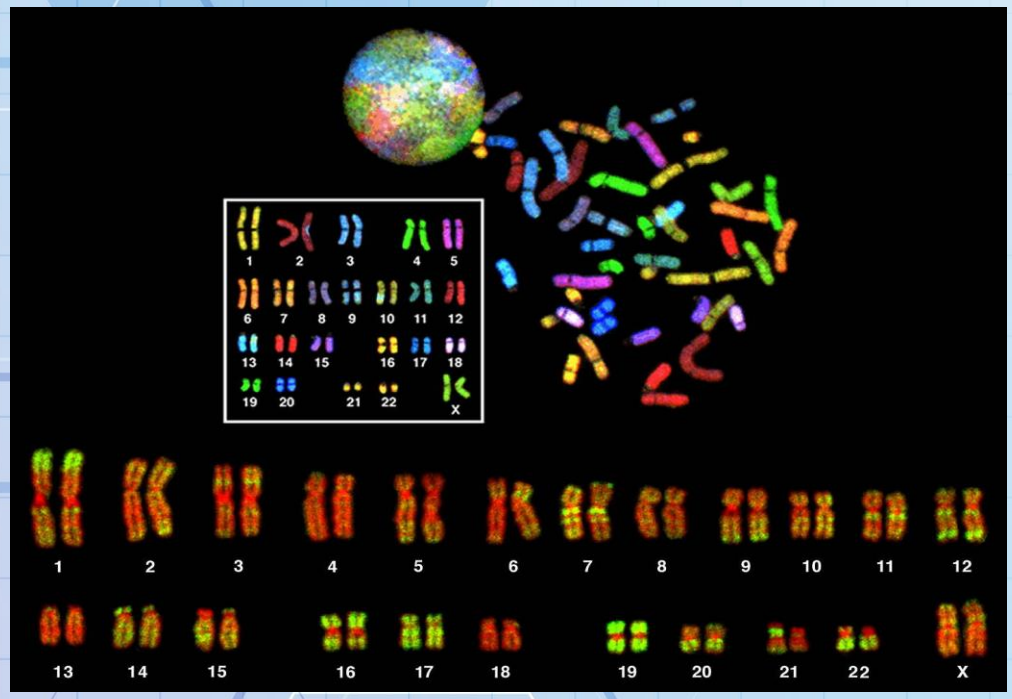
microarray

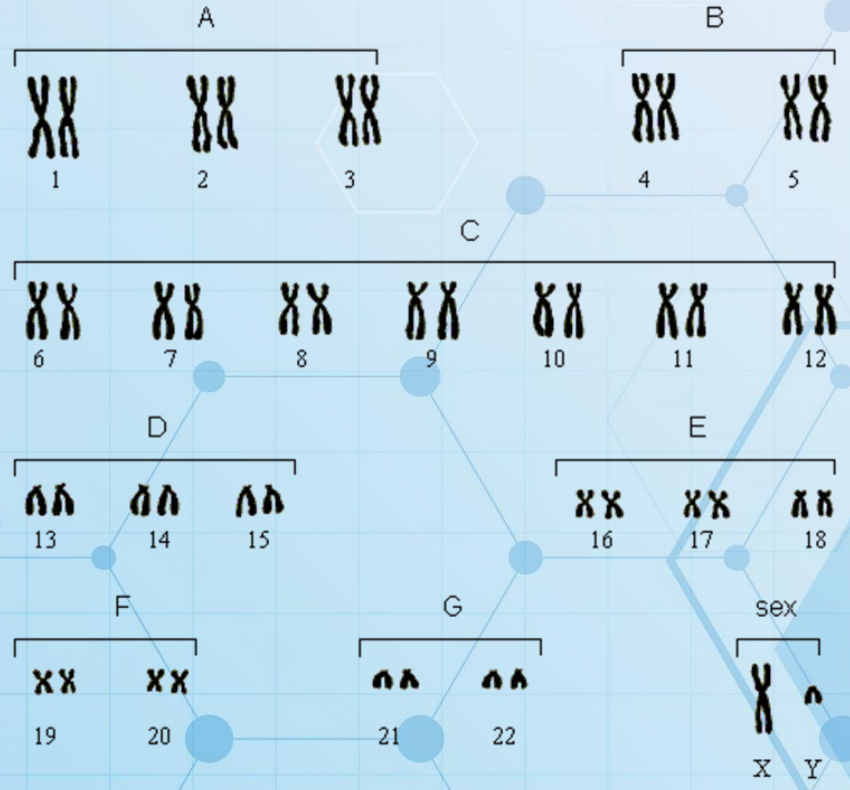
PCR

کاریوتایپینگ باند G



کاریوتایپ





مرکز آموزش عالی علوم پزشکی وارستگان

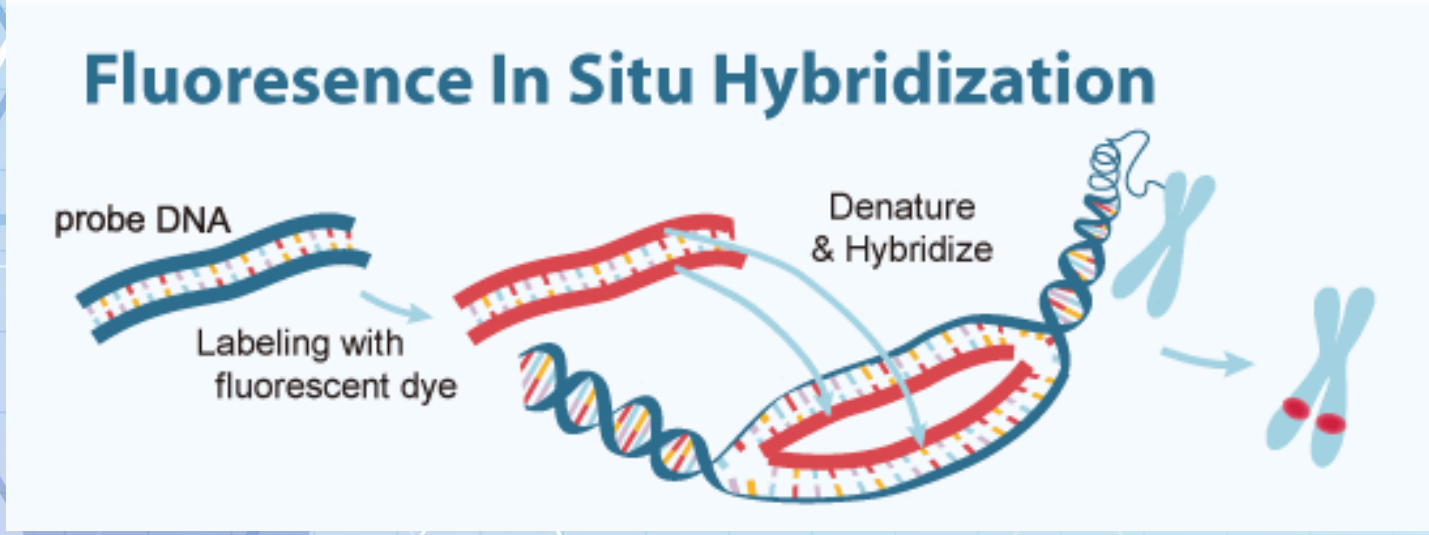
کاریوتایپ طیفی

کاریوتایپ طیفی مربوط به کاربرد تصویر برداری طیفی در آشکارسازی همزمان کروموزوم های انسانی به رنگ های مختلف میباشد.

مزایا: جابه جایی های کروموزومی قابل تشخیص است و نیاز به تجهیزات بسیار پیشرفته ندارد.

عیب: محل دقیق ژن جهش یافته و ژن جدید قابل تشخیص نیست.

تکنیک FISH



۱. نشاندار کردن پروب به وسیله ی روش های مختلفی شامل nick translation و یا PCR با استفاده از نوکلئوتید های نشاندار شده انجام می شود.

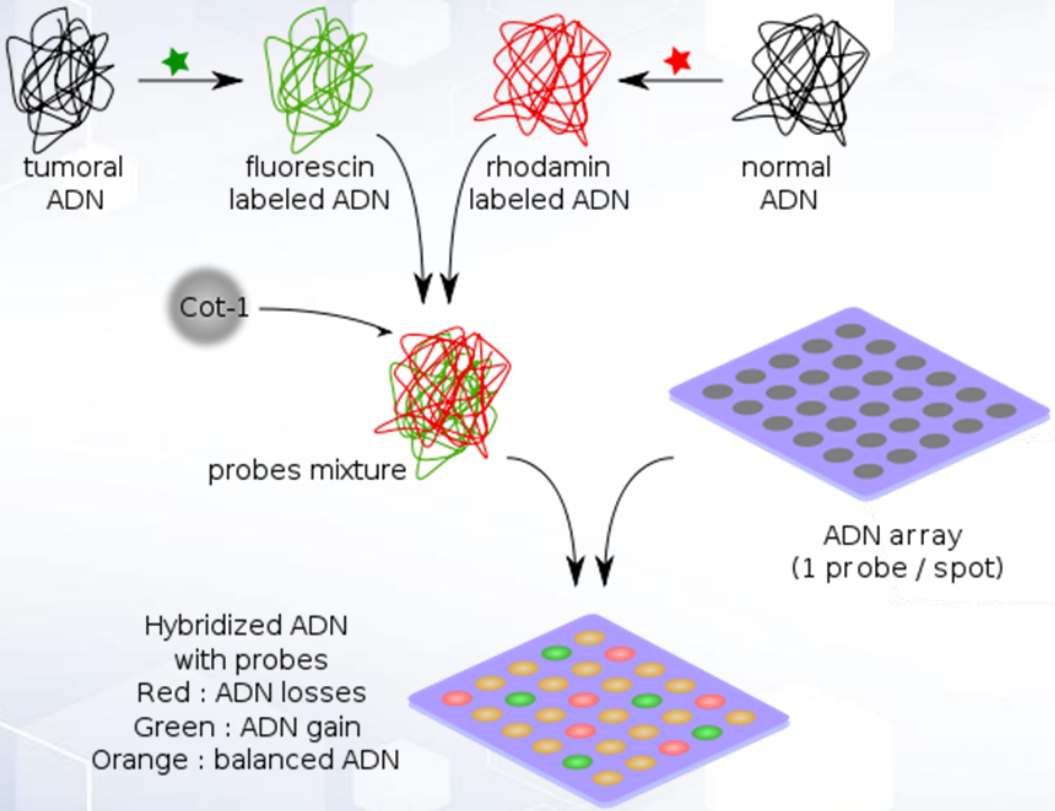
۲. کروموزوم های اینترفاز و یا متافاز تهیه میگردند.

۳. هیبریداسیون

٤. مشاهده با میکروسکوپ فلوئورسنت

- مزایا: میتوان حضور توالی خاص DNA بر روی کروموزوم را تشخیص داد. و تشخیص و جداسازی mRNA ویژه درون نمونه ی بافت.
- معایب: نیاز به دقت فراوان دارد.

تکنیک Array CGH



❖ مزایا:

۱) بررسی تمامی ٤٦ کروموزوم انسانی در یک آزمایش

۲) شناسایی محل دقیق حذف شدگی و اضافه شدگی ها در ژنوم

۳) کمک به شناسایی نقاط شکست در عدم تعادل های کروموزومی شناخته شده

❖ معایب:

۱)نیازمند آگاهی اولیه از توالی ژن مورد نظر

۲) در مورد جهش جابجایی کاربرد کمتری دارد

مرکز آموزش عالی علوم پزشکی وارستگان

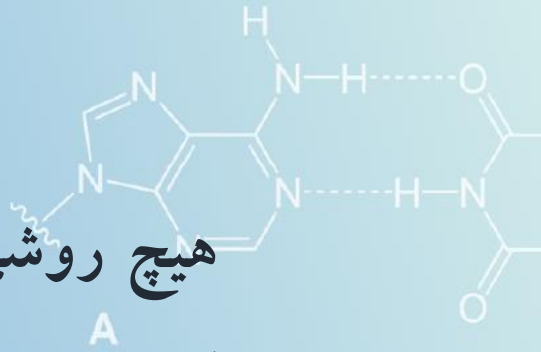
جدول ۱. مقایسه انواع روش‌های تعیین توالی در توالی یابی نسل جدید

دستگاه	Pacbio	Ion Torrent	Illumina	SOLiD	sanger
روش	همانند سازی DNA Single-molecule in) (real-time	سیستم شناسایی نیمه رسانا	سنتز با رنگ‌های پایان دهنده ولی برگشت پذیر	اتصال و امولسیون PCR	خاتمه زنجیر
طول توالی شناسایی شونده	به طور متوسط 3Kbp	200bp	50-250bp	20+50 یا 50+35	400-900bp
نوع جهش تشخیصی	درج یا حذف بازها	درج یا حذف بازها	جایگزینی بازها	جابجایی بازهای A-T	درج یا حذف بازها
دقت	٪۸۷(در حالت read length) ٪۹۹(در حالت accuracy)	٪۹۸	٪۹۸	٪۹۹/۹	٪۹۹/۹
مجموعه توالی‌های شناسایی شده در هر اجرا	۷۵۰۰۰-۳۵۰۰۰	تا ۵ میلیون	تا ۳ میلیارد	۱/۲ تا ۱/٤ میلیارد	N/A
زمان هر اجرا	۳۰ دقیقه تا ۲ ساعت	۲ ساعت	۱ تا ۱۰روز (بسته به دستگاه توالی خوان و طول توالی)	۱ تا ۲ هفته	۲۰دقیقه تا ۳ ساعت
هزینه توالی یابی هر میلیون باز	۲ دلار	۱دلار	۰/۰۵ تا ۰/۱۵ دلار	۰/۱۳ دلار	۲٤۰۰ دلار
مزایا	خواندن بلند ترین توالی سرعت	تجهیزات ارزان تر سرعت	عملکرد خواندن توالی بالا، هزینه، دقت	هزینه کمتر برای خواندن هر باز	خواندن توالی به صورت تکی پرکاربرد برای بسیاری از نرم افزارها
معایب	عملکرد پایین در دقت بالا تجهیزات بسیار گران	خطاهای هموپلیمر	تجهیزات بسیار گران	آهسته تر از روش‌های دیگر، طولانی شدن زمان خواندن، طولانی شدن پلت فرم	هزینه‌های بالا غیر قابل انجام برای پروژه‌های توالی‌های بلند

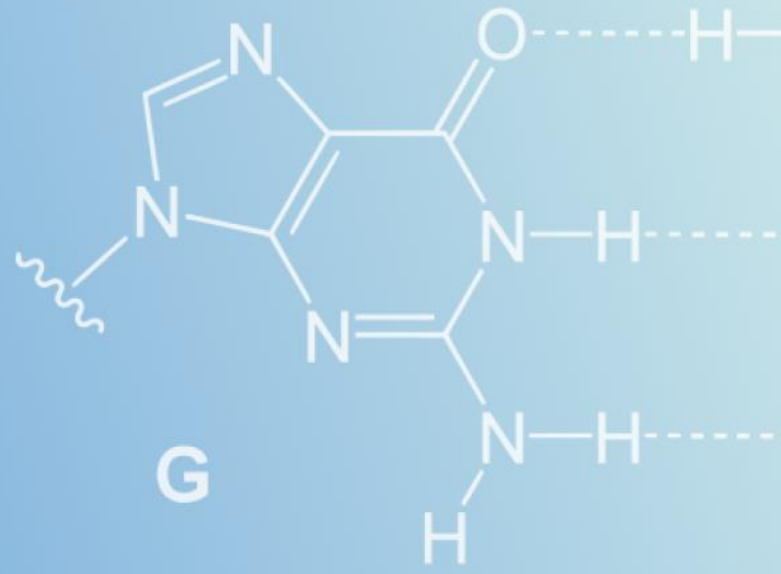
نتیجه گیری

مرکز آموزش عالی علوم پزشکی وارستگان

شناسایی تغییرات ساختاری

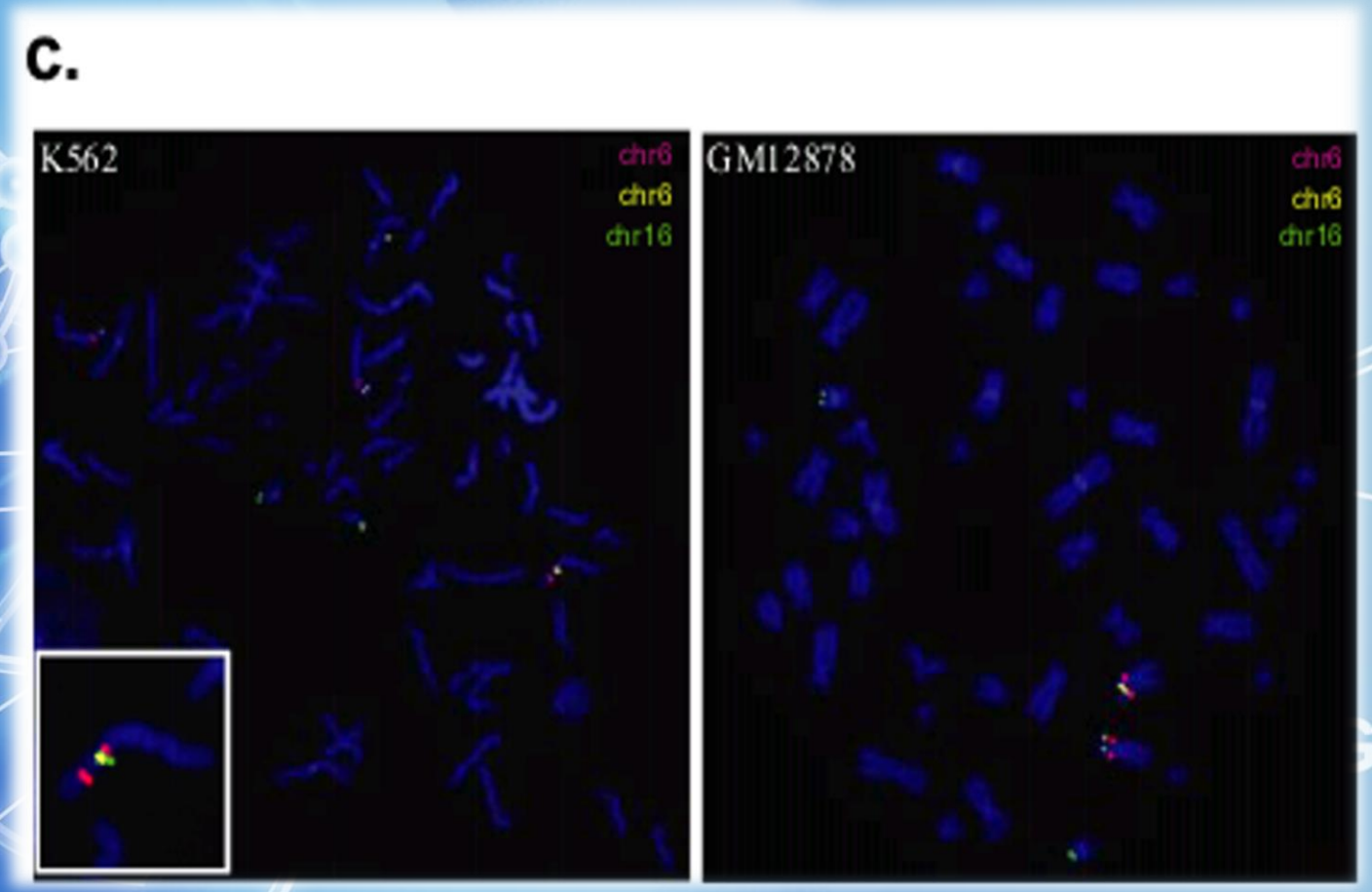


هیچ روشی به تنهایی نمیتواند همه ی گونه های ساختاری را شناسایی کند و هر رویکرد نقاط قوت و ضعف خود را دارد.

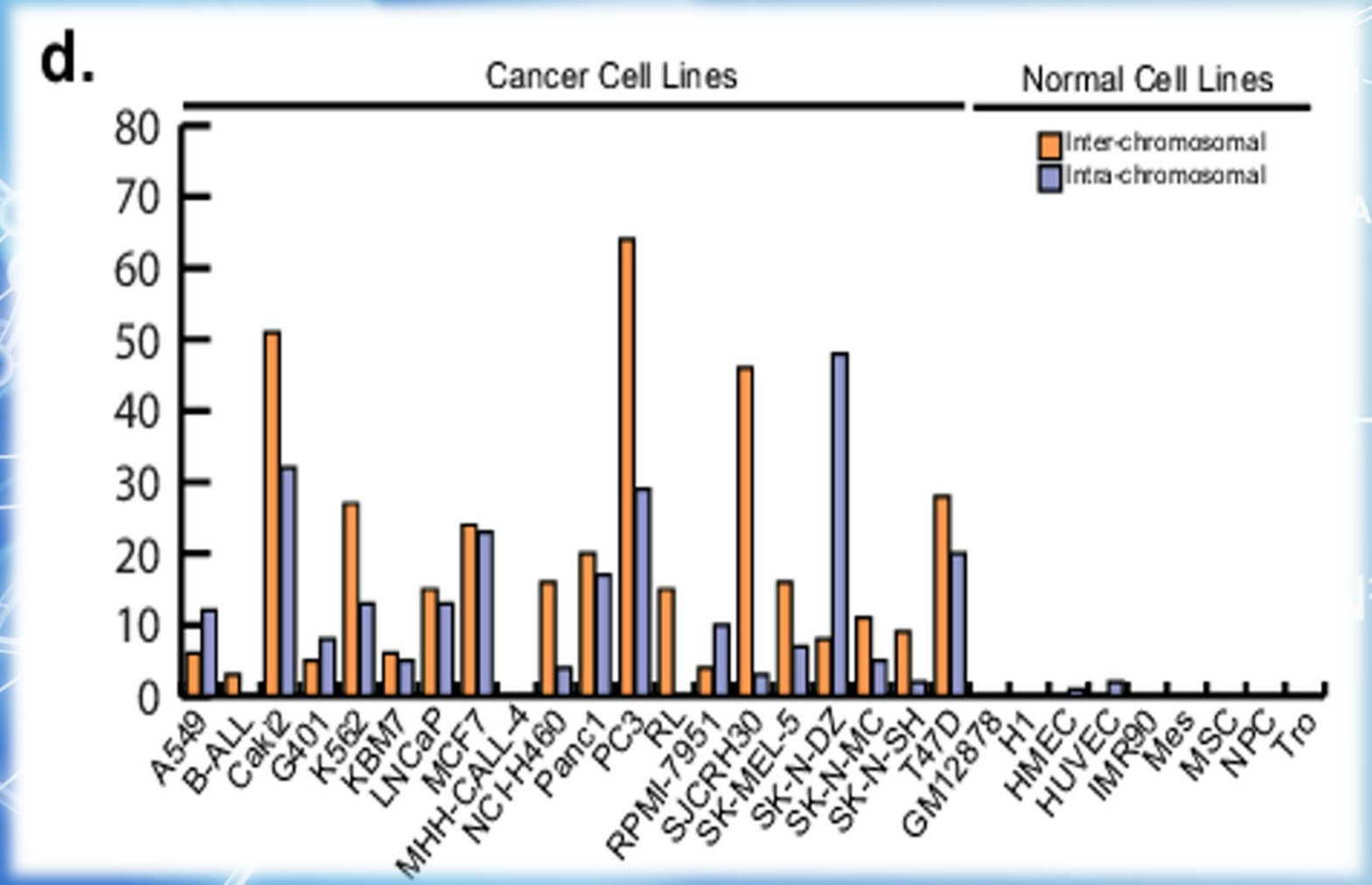


مرکز آموزش عالی علوم پزشکی وارستگان

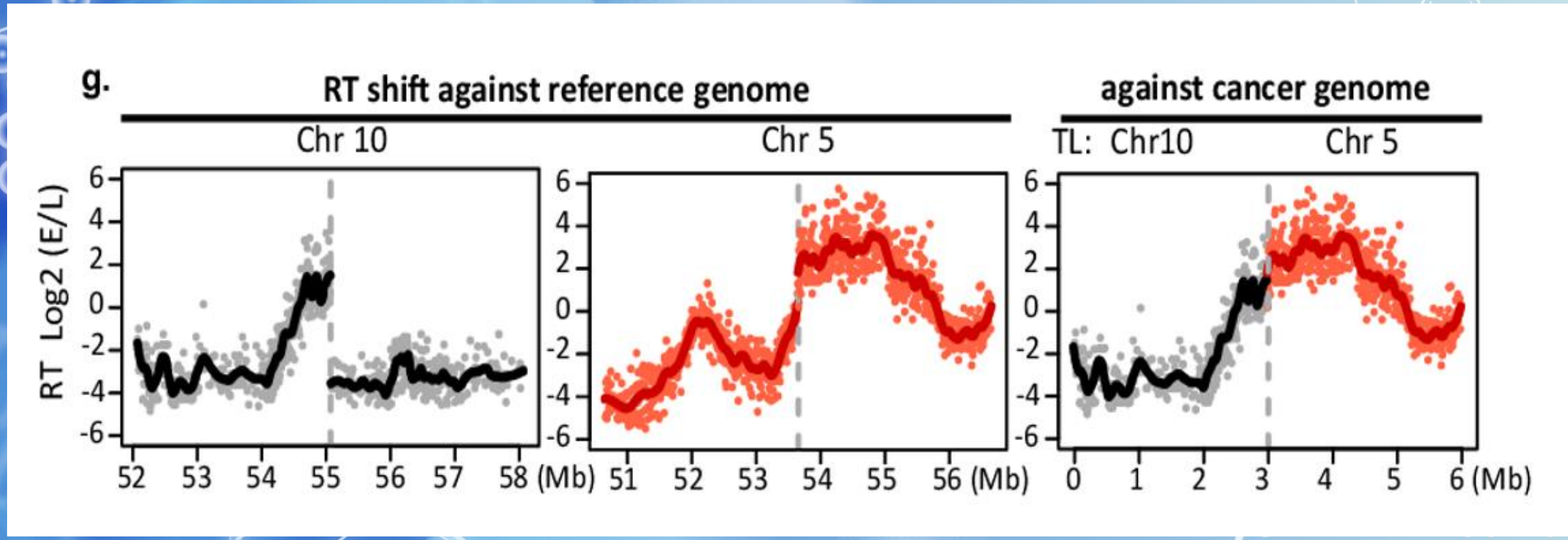
جابجایی درون و میان کروموزومی شناسایی شده توسط رنگ فلورسنت



اعتبار سنجی جابجایی پیچیده (chr6-chr6-chr16) توسط FISH در سلولهای K562



شکل G : اثر جابجایی بر زمانبندی کپی



ژنوم های سرطانی شناسایی شده با روش های ژنتیکی

روش	شناسایی سرطان
Pcr	1) سرطان سلول های pc3 پروستات 2) سرطان کولون 3) سرطان سینه
FISH	تشخیص ژن HER2 در سرطان سینه
MicroArray	AML و ALL
NGS	تقریبا تمام سرطان ها با این روش قابل تشخیص هستند. مثال: تعیین توالی بی سولفیت برای برسی الگو های متیلاسیون در سراسر ژنوم سرطان خون

منابع

- jesse Dixon(march 28 .2017) “ An integrative framework for detecting structural variations in cancer genomes.10.1101/119651
- Jr Dixon (10 September 2018) “integrative detection and analysis of structural variation in cancer genomes. 10.1038/s41588-018-0195-8
- Mori A, deola s, xumerle L , mijatovic V, malerba G, monsurro V, next generation sequencing: new tools in immunology and hematology. Blood research.2013:48(4):242-9
- کتاب سایتوژنتیک بالینی/د. محمدرضا عباس زادگان ،سعیده غذایی، فاطمه کیفی، فرزانه میرزایی

مرکز آموزش عالی علوم پزشکی وارستگان

با تشکر از حسن توجه شما