

مقدمه:

نئوپلاسم‌های میلوپرولیفراتیو (Myeloproliferative Neoplasms) یا MPNs گروهی از اختلالات خونی نادر و کلونال هستند که در اثر تکثیر کنترل‌نشده سلول‌های پیش‌ساز خون‌ساز در مغز استخوان ایجاد می‌شوند. جهش **JAK2 V617F** یکی از جهش‌های شایع در بیماری‌های میلوپرولیفراتیو (MPNs) است. این جهش در ژن **JAK2 (Janus Kinase 2)** رخ می‌دهد و منجر به جایگزینی اسید آمینه والین (V) با فنیل‌آلانین (F) در موقعیت ۶۱۷ پروتئین **JAK2** می‌شود. این تغییر باعث فعال شدن دائمی مسیر **JAK-STAT** می‌گردد، که نقش مهمی در تنظیم تکثیر و تمایز سلول‌های خونی دارد و بدون نیاز به اتصال لیگاند (مانند اریتروپوئیتین یا ترومبوپوئیتین) منجر به تکثیر و تجمع غیرقابل کنترل سلول‌های پیش‌ساز خون‌ساز می‌گردد. تشخیص جهش **JAK2 V617F** یکی از مراحل کلیدی در ارزیابی بیماران مبتلا به بیماری‌های میلوپرولیفراتیو (MPNs) مانند پلی‌سیتمی ورا، ترومبوسیتمی ضروری و میلو فیبروز اولیه است.

روش متداول کنونی در تشخیص جهش **JAK2 V617F** در کشور **PCR** آلل اختصاصی است که نسبت به روش **HRM-real-time** از حساسیت و اختصاصیت کمتری برخوردارند از سوی دیگر روش‌های مبتنی بر **real-time PCR** از هزینه بالایی برخوردار است. هدف از این طرح، طراحی پرایمرهای مناسب از روش **HRM-real-time PCR** در تشخیص **JAK2 V617F** و استفاده از الگوهای منحنی ذوب آموزش دیده توسط الگوریتم یادگیری ماشین است تا در نهایت ژنوتیپ و فنوتیپ خروجی را ارائه دهد.

مواد و روش‌ها:

در این مطالعه، تکنیک **HRM** به‌عنوان یک روش سریع، اقتصادی و حساس برای شناسایی این جهش مورد استفاده قرار گرفته است. این روش بر اساس تفاوت‌های منحنی ذوب **DNA** عمل می‌کند و امکان تمایز ژنوتیپ‌های مختلف را فراهم می‌سازد. به منظور بهینه‌سازی تحلیل داده‌های **HRM**، از الگوریتم‌های یادگیری ماشین بهره گرفته شده تا نمونه‌ها به‌صورت خودکار طبقه‌بندی شوند. داده‌های ۳۸ نمونه بالینی جمع‌آوری و مدل یادگیری ماشین

بر اساس الگوریتم ماشین بردار پشتیبان (**SVM**) آموزش داده شد. این الگوریتم با استفاده از ویژگی استخراج‌شده (بیشینه فلورسانس) و برجسب‌های طبقه‌بندی‌شده، به مدل‌سازی مرز تصمیم‌گیری بین نمونه‌های جهش‌دار و فاقد جهش پرداخت.

یافته‌ها:

واکنش **HRM** با استفاده از پرایمرهای اختصاصی طراحی شده برای ناحیه خاصی از ژن انجام شد و تک قله بودن منحنی‌های ذوب مربوط به ژن **JAK2** نمایش داده شده است. نتایج ارزیابی عملکرد مدل ماشین بردار پشتیبان مدل نشان داد که سیستم طراحی‌شده دارای صحت کلی ۹۷٪، حساسیت ۹۴٪ و اختصاصیت ۱۰۰٪ است، که دقت بالای آن را در تشخیص نمونه‌های دارای جهش تأیید می‌کند.

نتیجه‌گیری:

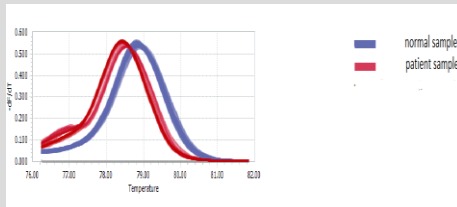


دانشگاه علوم پزشکی همدان
معاونت تحقیقات و فناوری

تولید کیت تشخیص جهش JAK2 V617F به روش HRM-real-time PCR

دکتر سعید افشار،

حسن زهره وند، دکتر سپیده عباس زاده



کد طرح: ۱۴۰۲۱۲۰۱۱۲۰

۱. ۱. تشخیص بیماری‌های میلوپرولیفراتیو

۲. تفکیک بین اختلالات میلوپرولیفراتیو و سایر بیماری‌ها

۳. پیش‌بینی پیشرفت بیماری

۴. پاسخ به درمان

مهم ترین یافته‌ها و پیام‌های پژوهش:

این پژوهش با ارائه یک روش استانداردسازی شده، سریع و مقرون به صرفه، زمینه‌ساز توسعه کیت‌های تشخیصی اتوماتیک با قابلیت تجاری‌سازی شده و نقش مهمی در بهبود فرآیندهای تشخیصی ایفا می‌کند. پیشنهاد شده است که تحقیقات آتی بر روی مجموعه داده‌های بزرگ‌تر انجام شود تا مدل بهبود یابد و تعمیم‌پذیری آن افزایش یابد.

این نتایج نشان می‌دهد که مدل ماشین بردار پشتیبان آموزش‌دیده، توانایی بالایی در تشخیص صحیح نمونه‌های دارای جهش (True Positives) و در عین حال عدم اشتباه در طبقه‌بندی نمونه‌های فاقد جهش (True Negatives) دارد. مقدار اختصاصیت برابر با ۱ بیانگر آن است که در هیچ یک از موارد، نمونه سالم به اشتباه به عنوان جهش یافته شناسایی نشده است. همچنین، دقت کلی ۰,۹۷ و ارزش اخباری مثبت ۱ نشان‌دهنده قابلیت اطمینان بسیار بالا در پیش‌بینی‌های مثبت مدل است، به گونه‌ای که تمام پیش‌بینی‌های جهش یافته واقعاً مثبت بوده‌اند. این امر برای کاربردهای بالینی و تشخیصی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. ابزار توسعه یافته می‌تواند با وارد کردن داده خروجی HRM، حضور یا عدم حضور جهش را به صورت خودکار، سریع و قابل اعتماد تعیین کند و نیاز به تفسیر چشمی منحنی‌ها را برطرف سازد

اهداف کاربردی: