به نام خداوند بخشنده مهربان

ژنتیکا

روشها و پروتکلهای ژنتیکی

www.genetica.ir

آموزش مقدماتی نرم افزار MEGA5

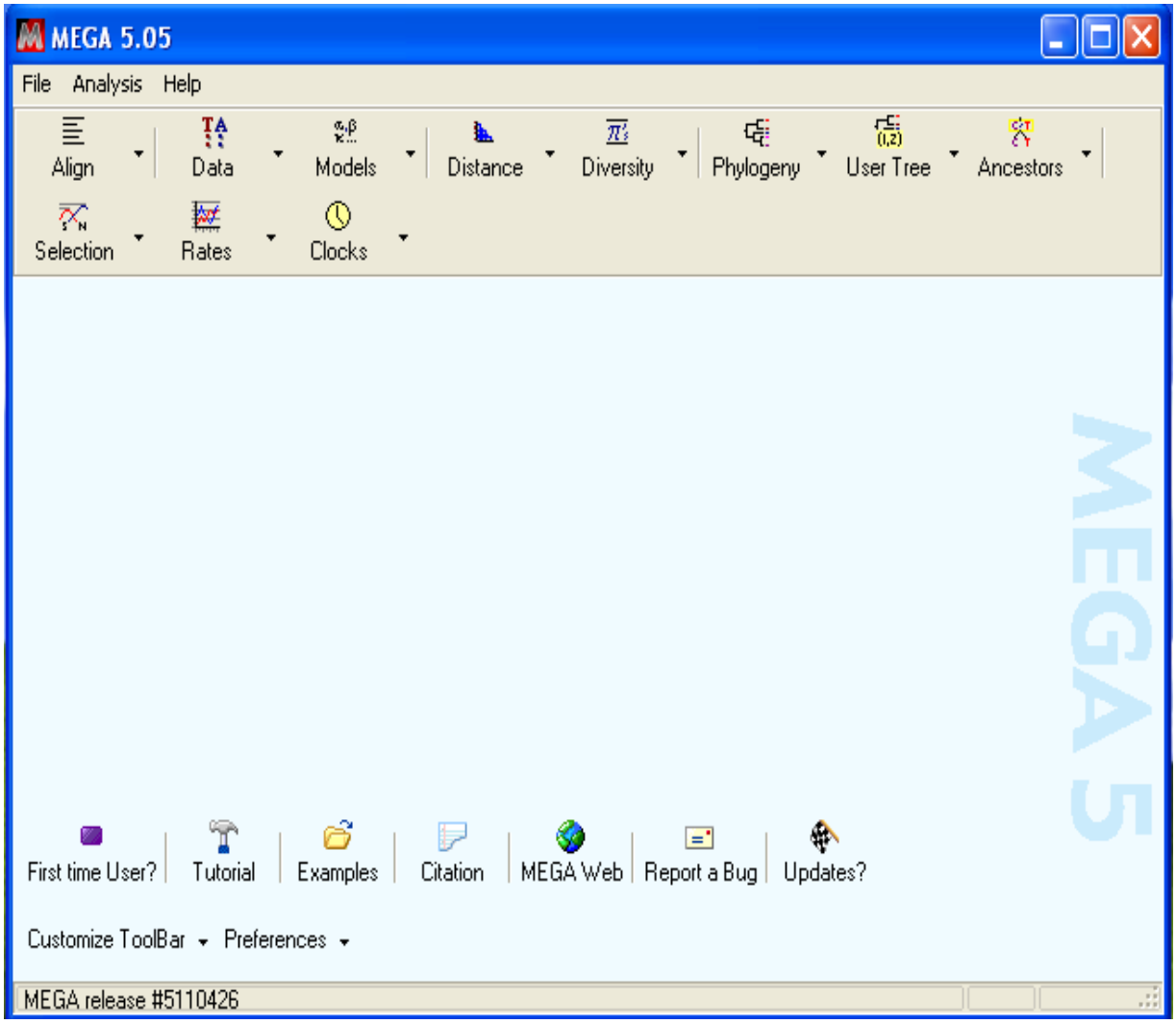
/http://www.newgenetic.com/fa

گردآوري و ترجمه: علي فصيحي

اين مقاله در تاريخ ۹۰/۹/۹ دريافت شد و

در تاريخ ۹۰/۹/۱۲ منتشر شد

آموزش مقدماتی نرم افزار MEGA 5



شکل اول (صفحه اصلی نرم افزار مگا ۵)

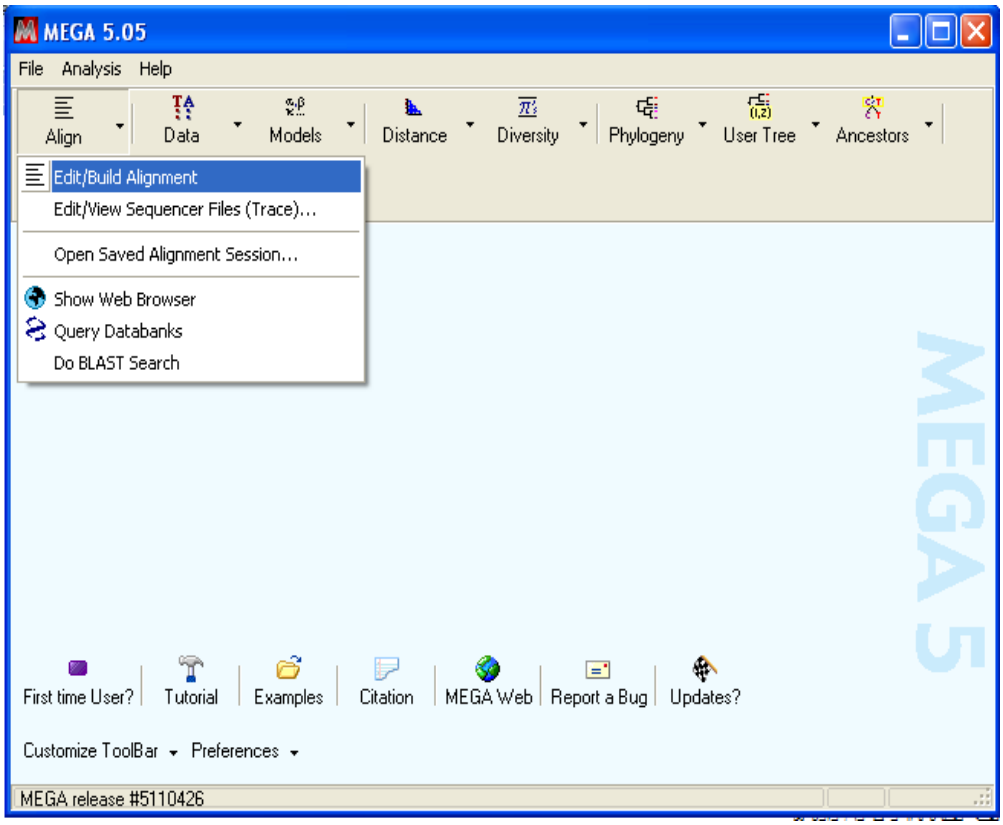
این نرم افزار که برای انالیز داده های حاصل از سکانس توالی های DNA و پروتئین ها می باشد، دارای محیط کاربری ساده و دسته بندی شده ای می باشد که کار با این نرم افزار را بسیار آسان می نماید

اصول اصلی برای کار با این نرم افزار شامل وارد کردن دادها ، مرتب کردن انها (align)، و سپس آنالیز کردن داده ها می باشد در این بخش به صورت مقدماتی و تصویری به بررسی برخی امکانات این نرم افزار می پردازیم.

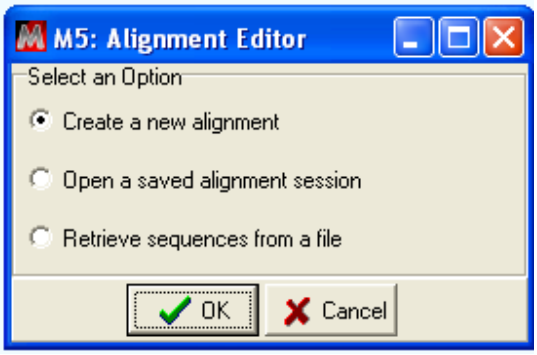
الف: نحوه وارد کردن داده ها

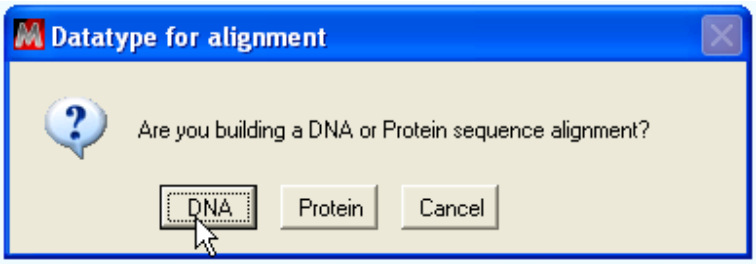
۱. وارد کردن داده های حاصل از سکانس مستقیم توالی DNA

در اینجا شما توالی DNAای که قبلا برای سکانس فرستاده بودید را می توانید وارد نرم افزار کنید معمولا توالی DNA به صورت چند فایل در اختیار افراد قرار میگیرد برای وارد کردن این توالی ها به نرم افزار ابتدا بروی گزینه Align کلیک کرده و سپس گزینه Edith/build Alignment را انتخاب نمایید

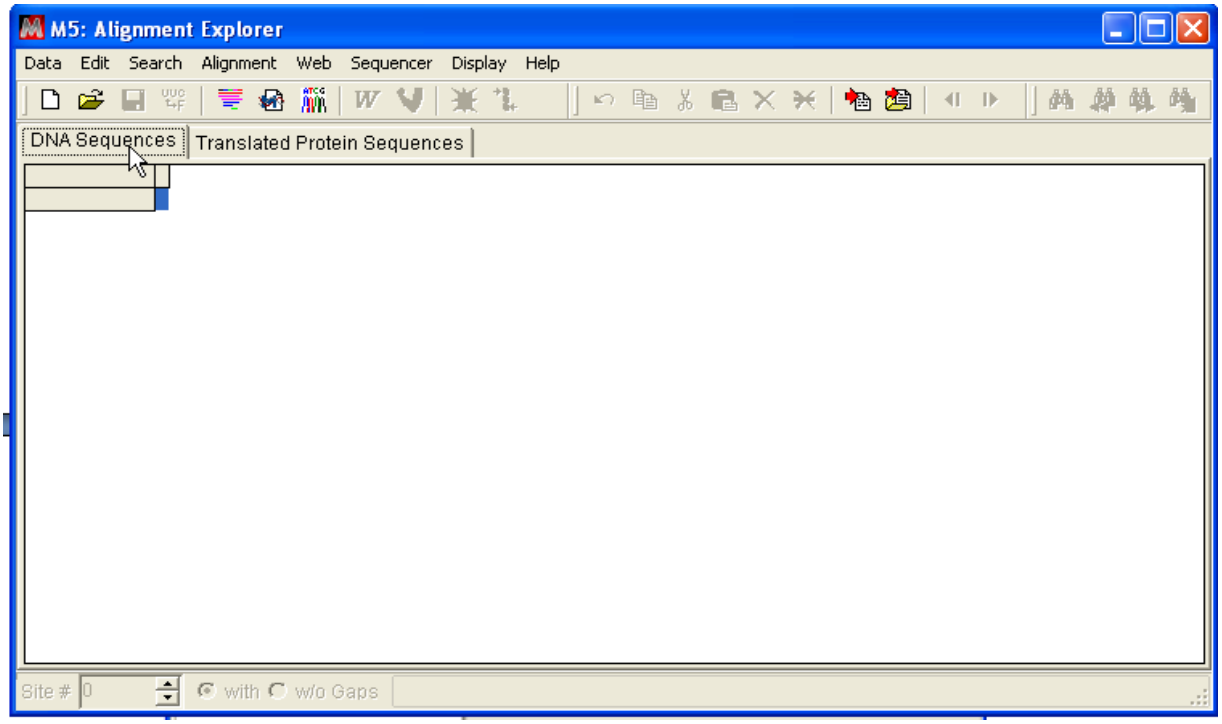


سپس گزینه creat new aligment را انتخاب نمایید.



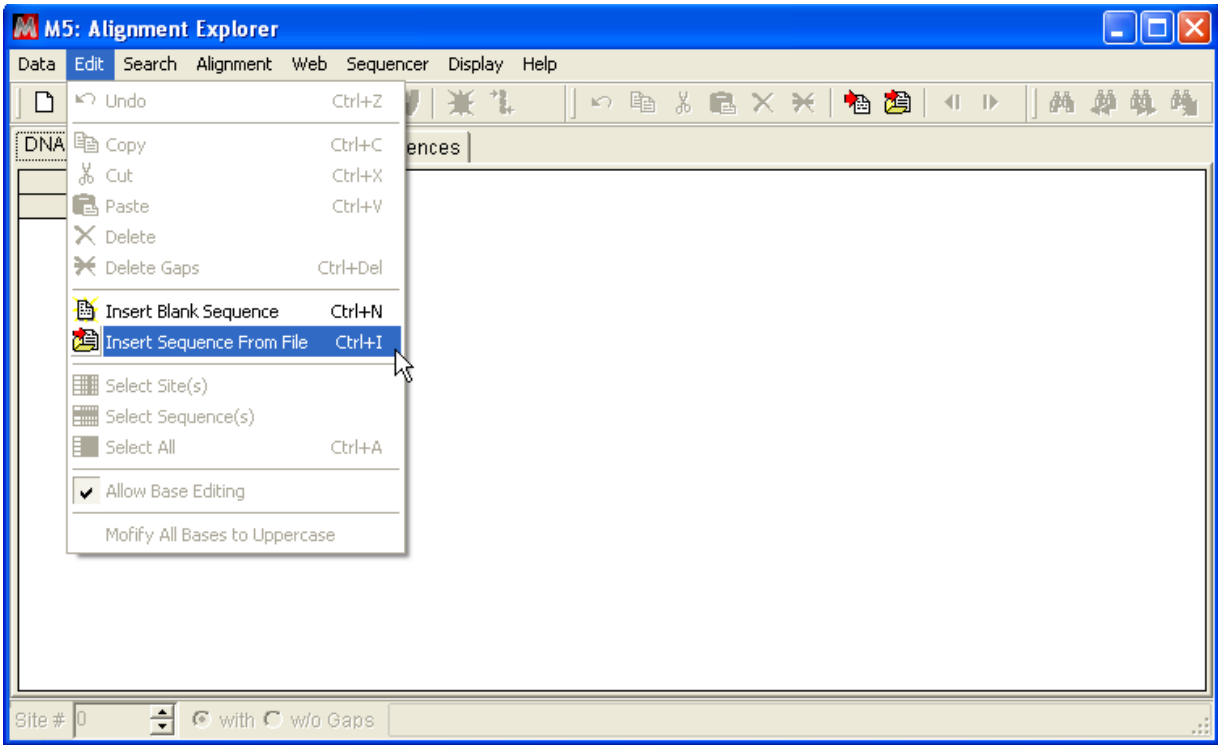


بعد از انتخاب گزینه DNA به صفحه Alignment explorer وارد میگردید که تمام داده ها را برای مرتب سازی وارد این صفحه می کنیم.

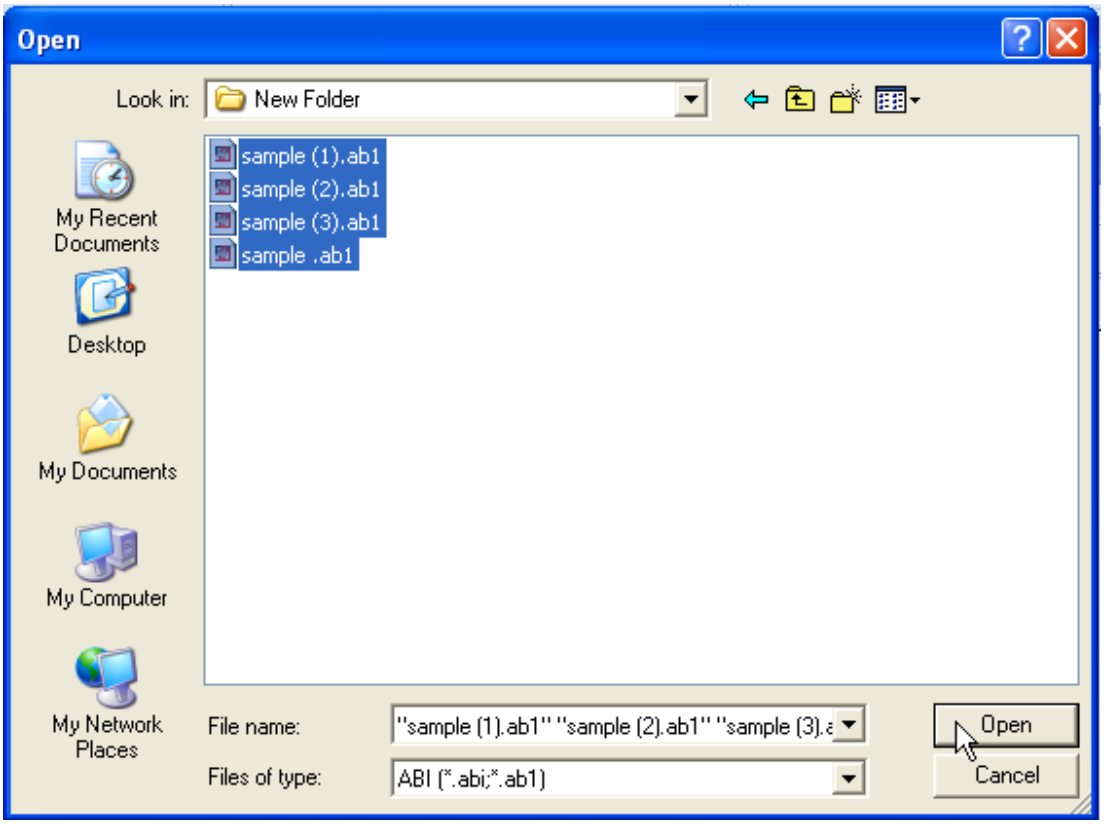


صفحه Aligment explorer

برای وارد کردن سکانس ها بروی گزینه Edit کلیک کرده و insert sequence from file را انتخاب نمایید



سپس تمامی فایل ها حاوی سکانس را انتخاب و Open نمایید تا داده ها وارد صفحه Alignment explorer گردند



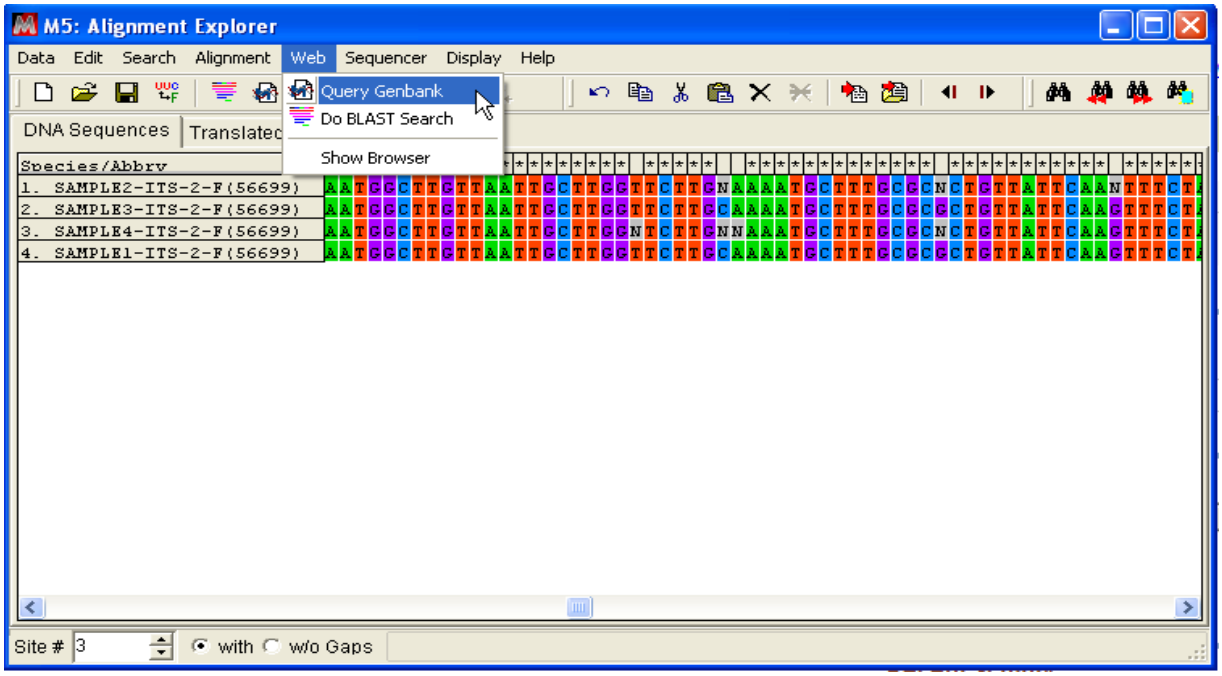
فولدری که فایل های حاوی سکانس ها درون ان قرار دارد در اینجا ۴ فایل (۴ نمونه سکانس شده) قرار دارد

در شکل فوق توالی های وارد شده را مشاهده می نمایید

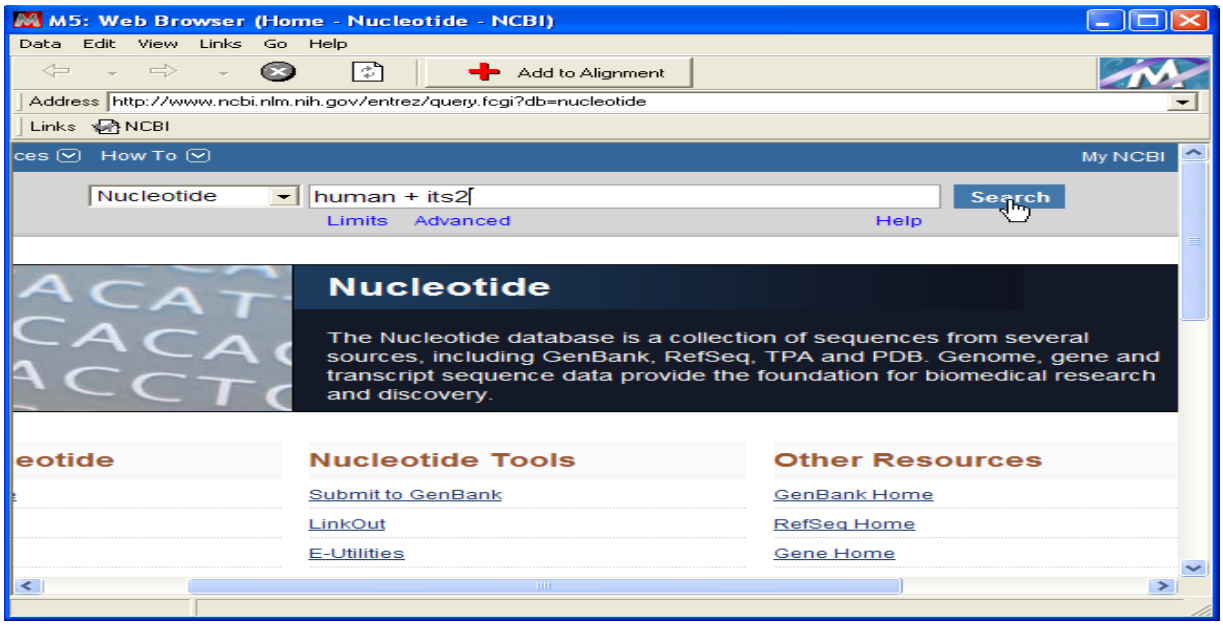
۲. وارد کردن داده ها از سایت NCBI

گاهی اوقات لازم است که توالی های مورد نظر را با سایر توالی های گزارش شده توسط دیگران مقایسه نمود برای این کار بعد از وارد نمودن داده های خود میتوان از سایت NCBI برای وارد مقایسه توالی های خودمان و سایر توالی ها استفاده نمود.

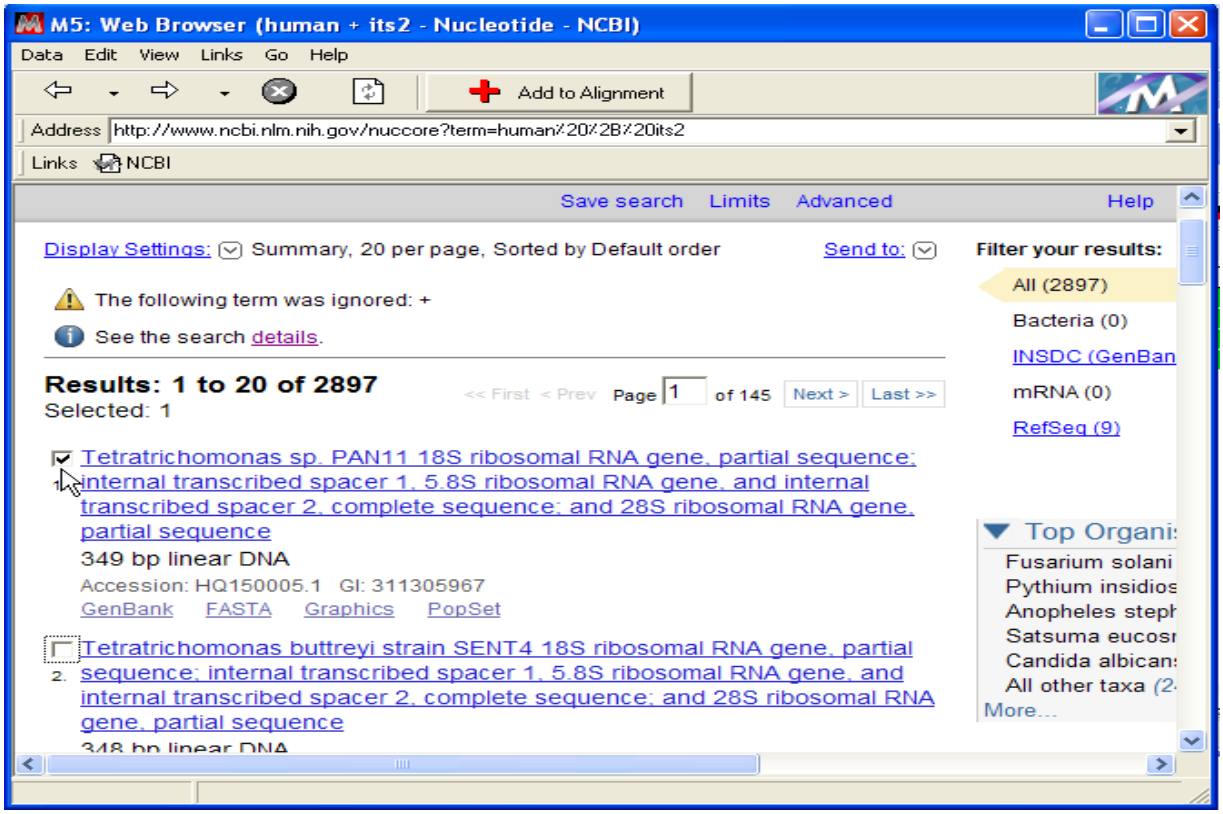
برای این منظور بعد از وارد نمودن سکانس های خود، در صفحه Alignment explorer در زبانه web گزینه Query genbank را انتخاب نمایید تاوارد سایت NCBI گردید و در آنجا توالی مورد نظر را جستجو نمایید



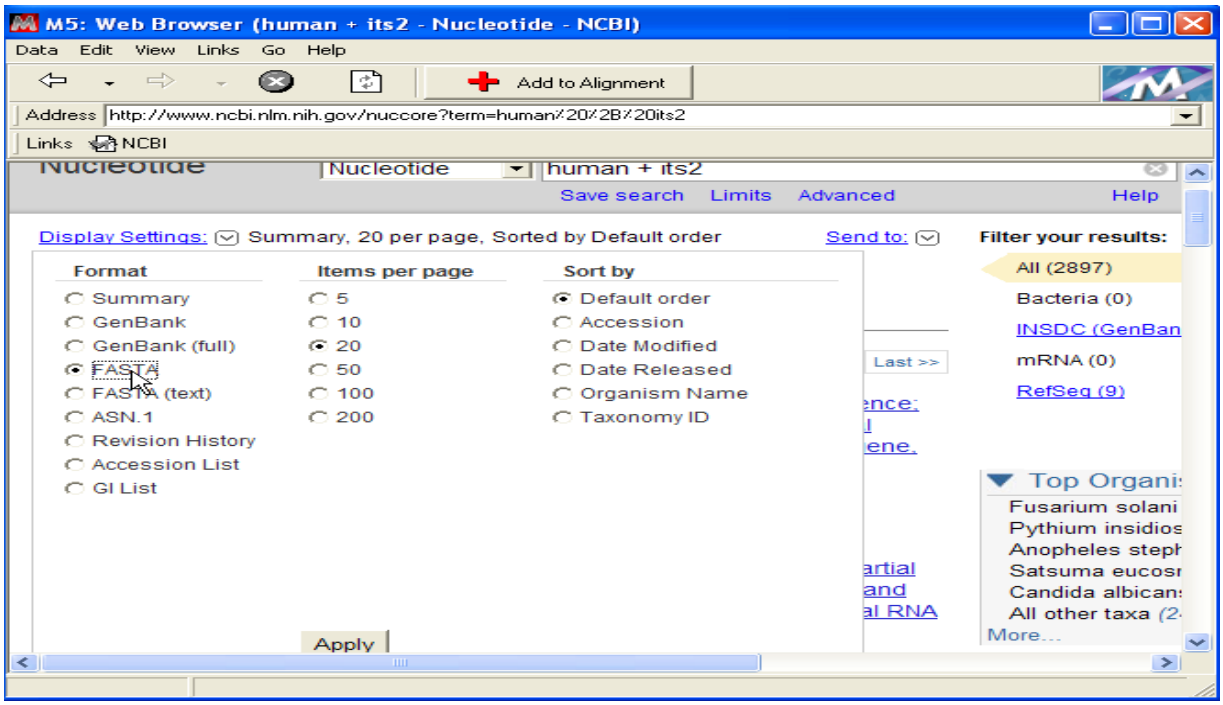
در اینجا توالی ITS2 را جستجو نموده (شکل زیر)



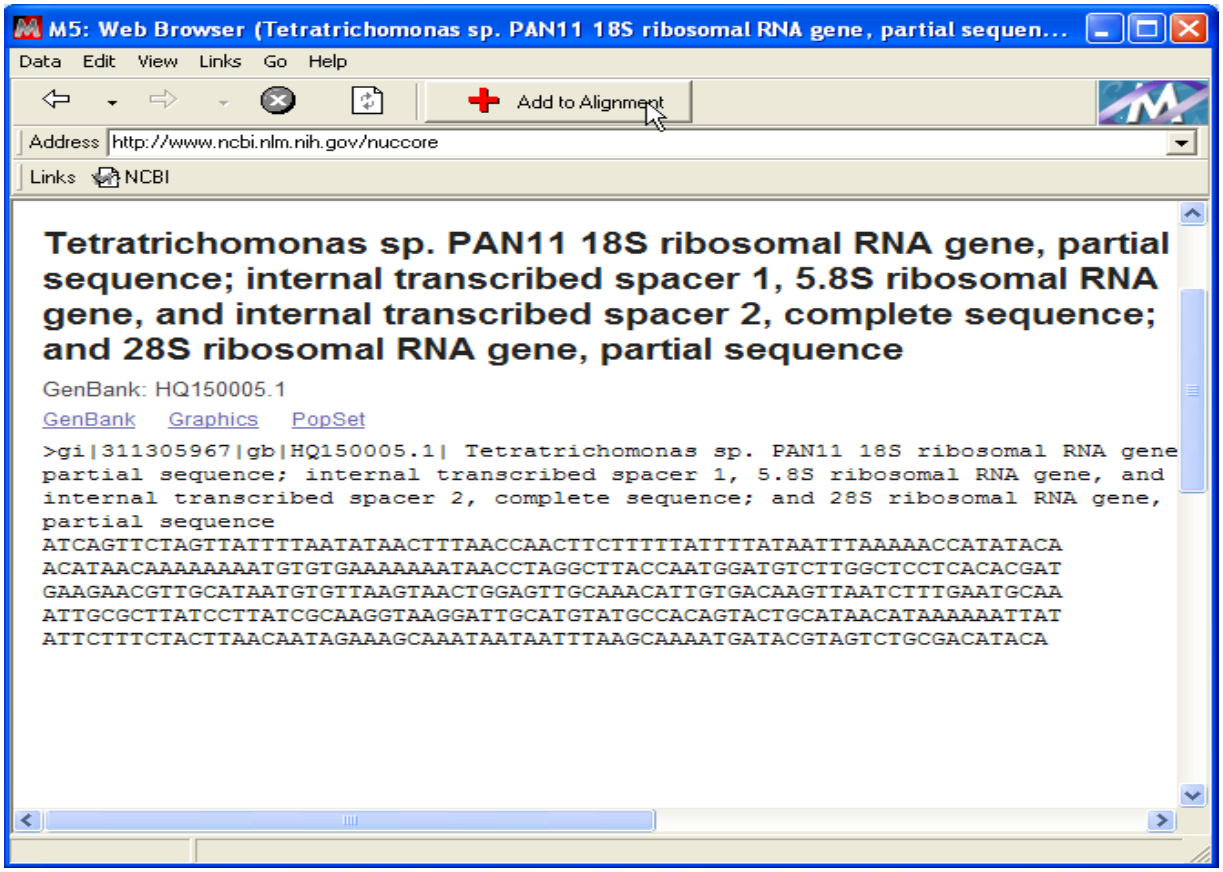
بعد از یافتن توالی مورد نظر تیک آن را بزنید تا بتوانید آن را به دیتای خود اضافه کنید



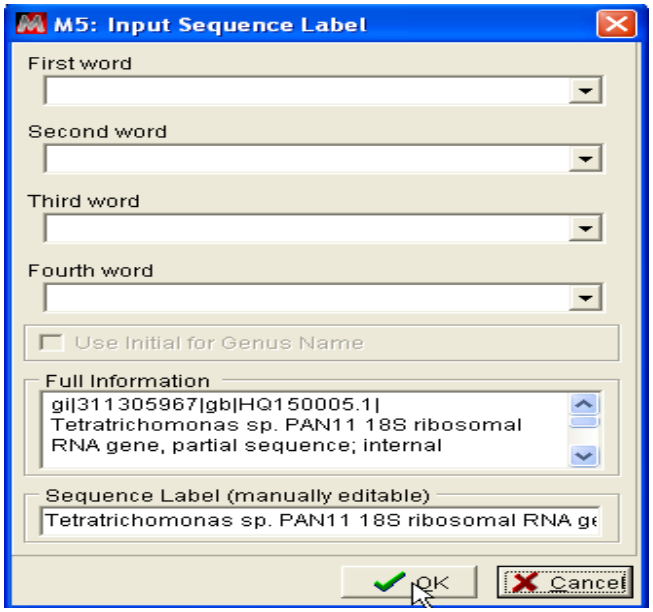
برای مشاهده جزئیات هر توالی از گزینه Display setting میتوان گزینه FASTA را انتخاب نمود



سپس برای افزودن این توالی به دیتا بیس خود گزینه Add to alignment را انتخاب میکنیم



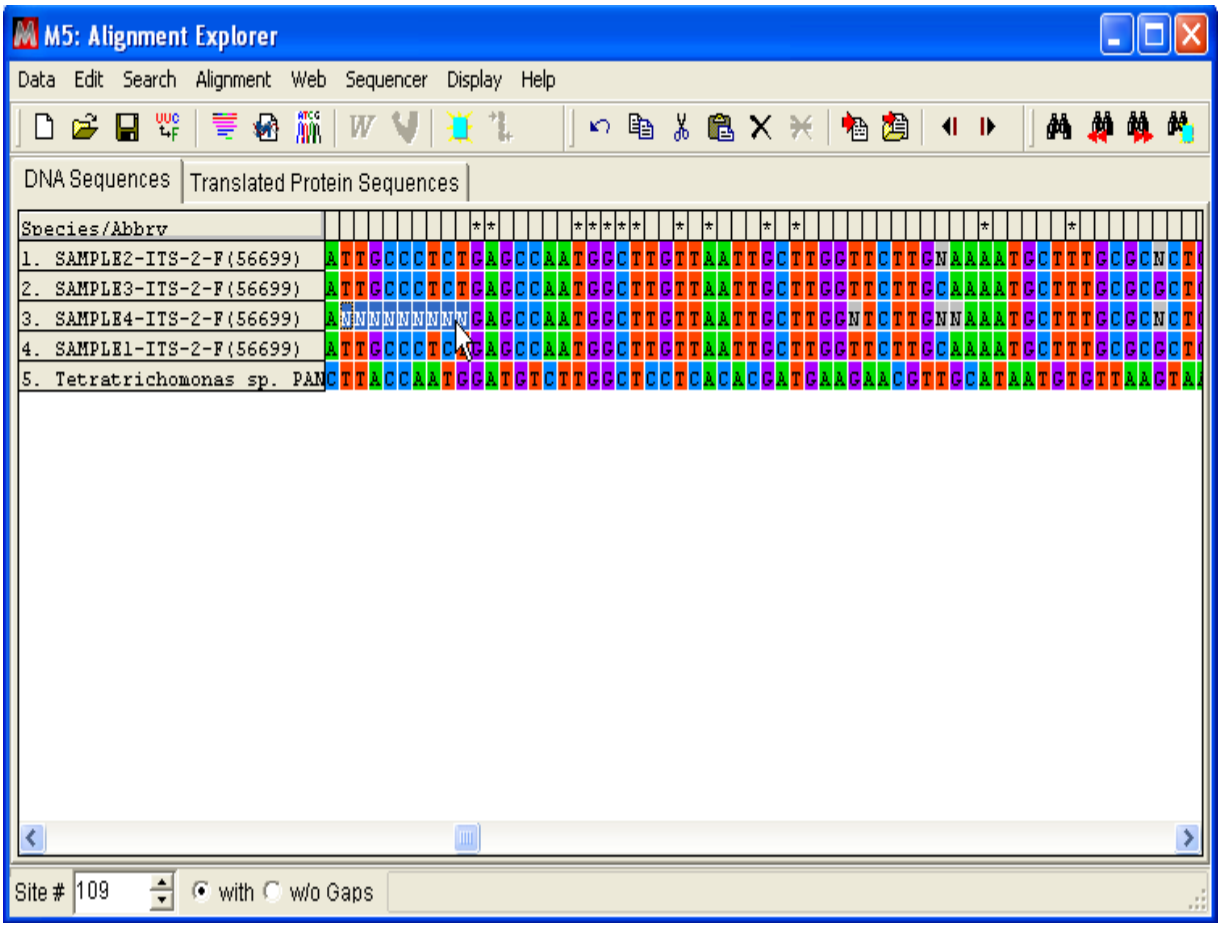
با زدن گزینه OK این توالی به صفحه Alignment explorer افزوده میشود



با این روش میتوان هر تعداد توالی مورد نظر خود را به دیتا بیس اضافه کرد

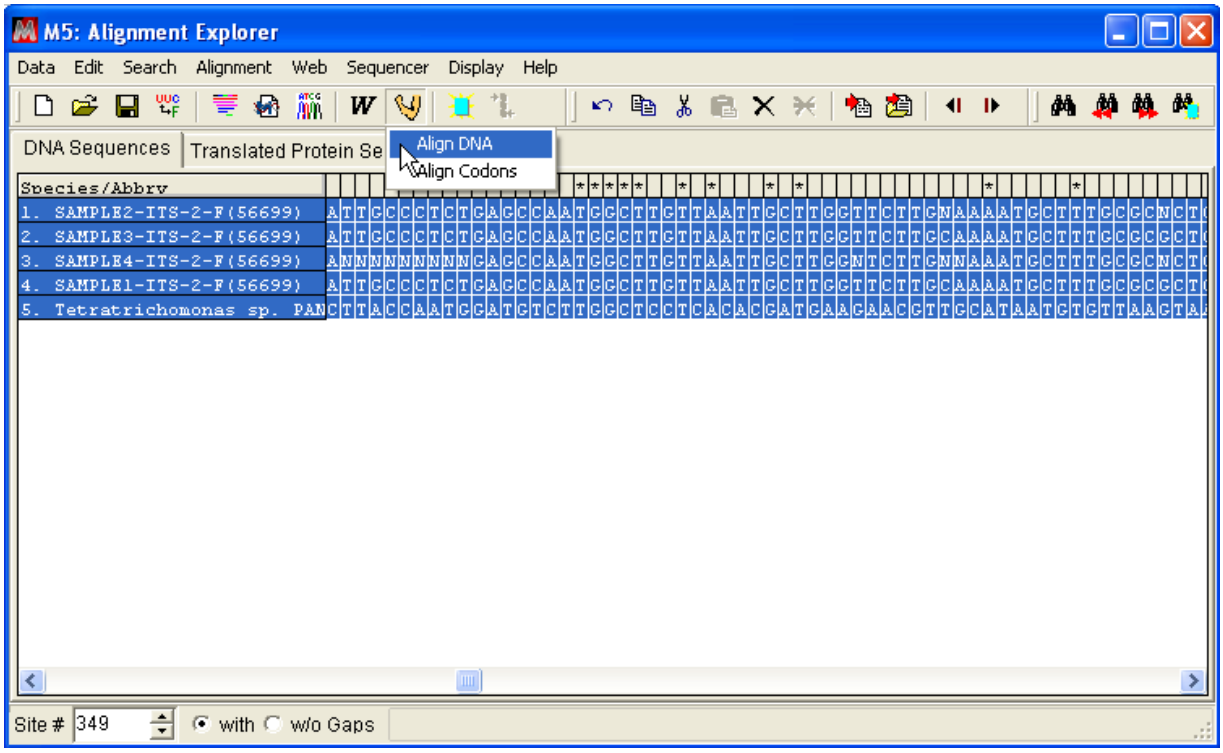
ب) مرتب کردن داده ها

در سکانس کردن نمونه ها برخی از نوکلئوتیدها سکانس نمیشوند و به صورت N نشان داده می شوند که این مورد میتواند در انالیز ما را با مشکل مواجه کند پس برای شروع کار باید این نوکلئوتیدها را حذف کرد برای این کار ابتدا آن ها را با موس انتخاب کرده و سپس با فشردن دکمه Delete کیبورد آن ها را حذف می نماییم

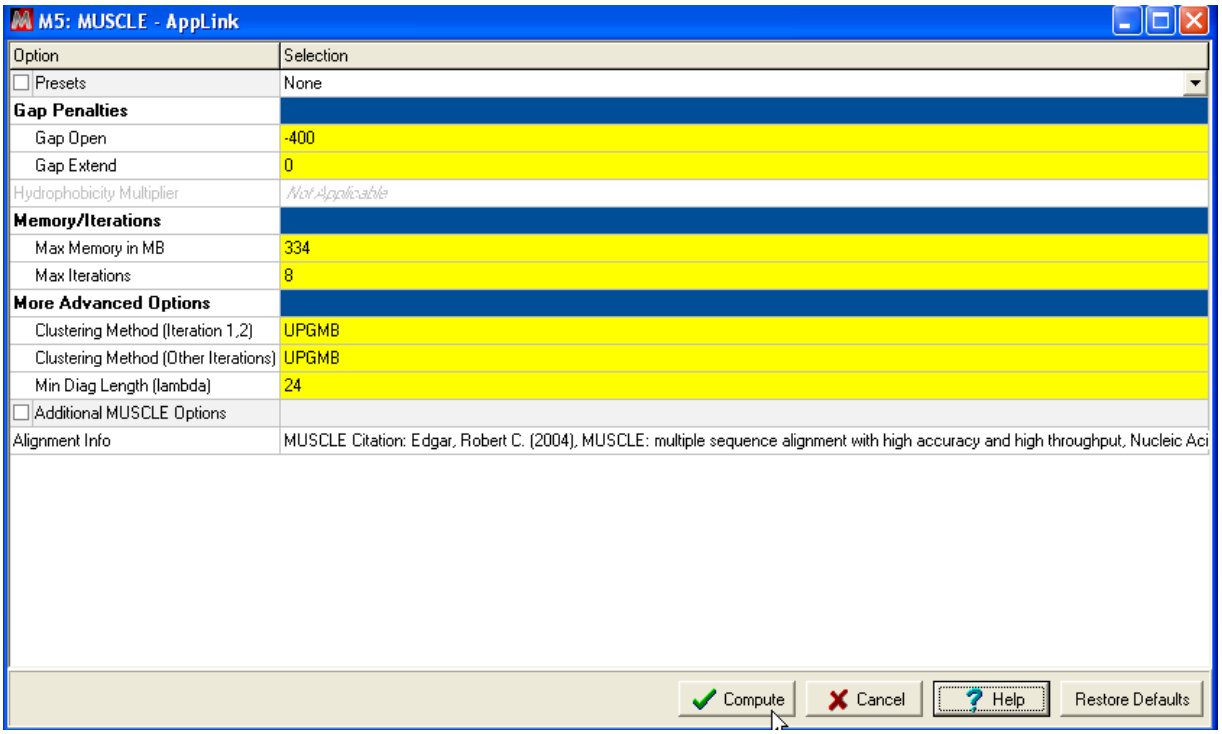


در مرحله بعد باید سکانس ها align شوند یعنی به نرم افزار بفهمانیم که کدام نوکلئوتید را با کدام نوکلئوتید مقایسه کند به عنوان مثال گر شما در سایت NCBI توالی ITS2 را جستجو نمایید متوجه میشوید این توالی اکثرا به همراه توالی های 18s، ITS1 نشان داده میشود و برای اینکه نرم افزار توالی های ITS2 را فقط با توالی های ITS2 مقایسه نماید نه با توالی های 18s باید سکانس ها Align گردند

برای این کار پس از انتخاب همه نمونه ها گزینه Align DNA را انتخاب می نمایم



نیاز چندانی به تغییر تنظیمات پنجره زیر نمی باشد فقط گزینه Compute را انتخاب کنید تا Alignکردن سکانس ها انجام شود

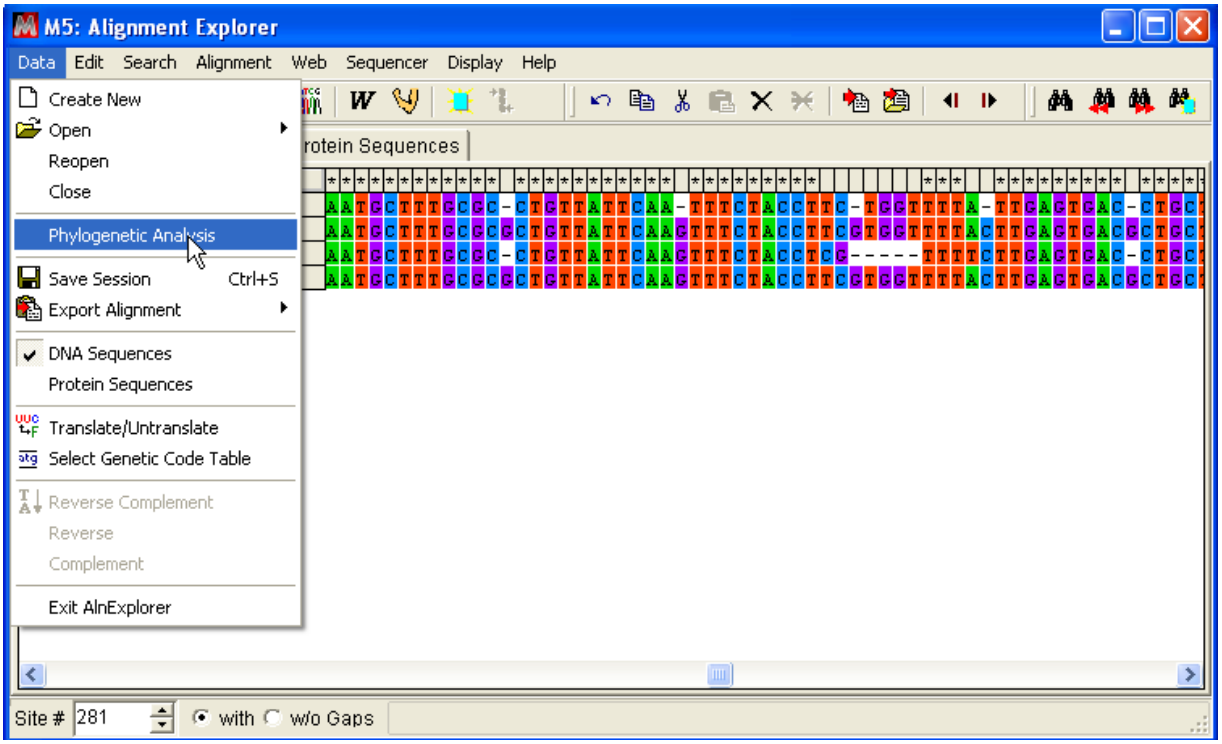


پس از Align کردن میتوان دید که در هر ستون تقریبا نوکلئوتیدهای یکسانی قراری گرفته است و اختلاف نوکلئوتیدی که در هر ستون دیده می شود به دلیل پلی مورفیسم بین نمونه ها می باشد

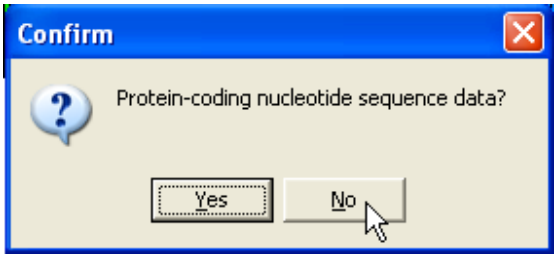
ج) آنالیز داده ها

انالیز داده ها شامل رسم درختچه، محاسبه ضرایب تشابه و ... می باشد

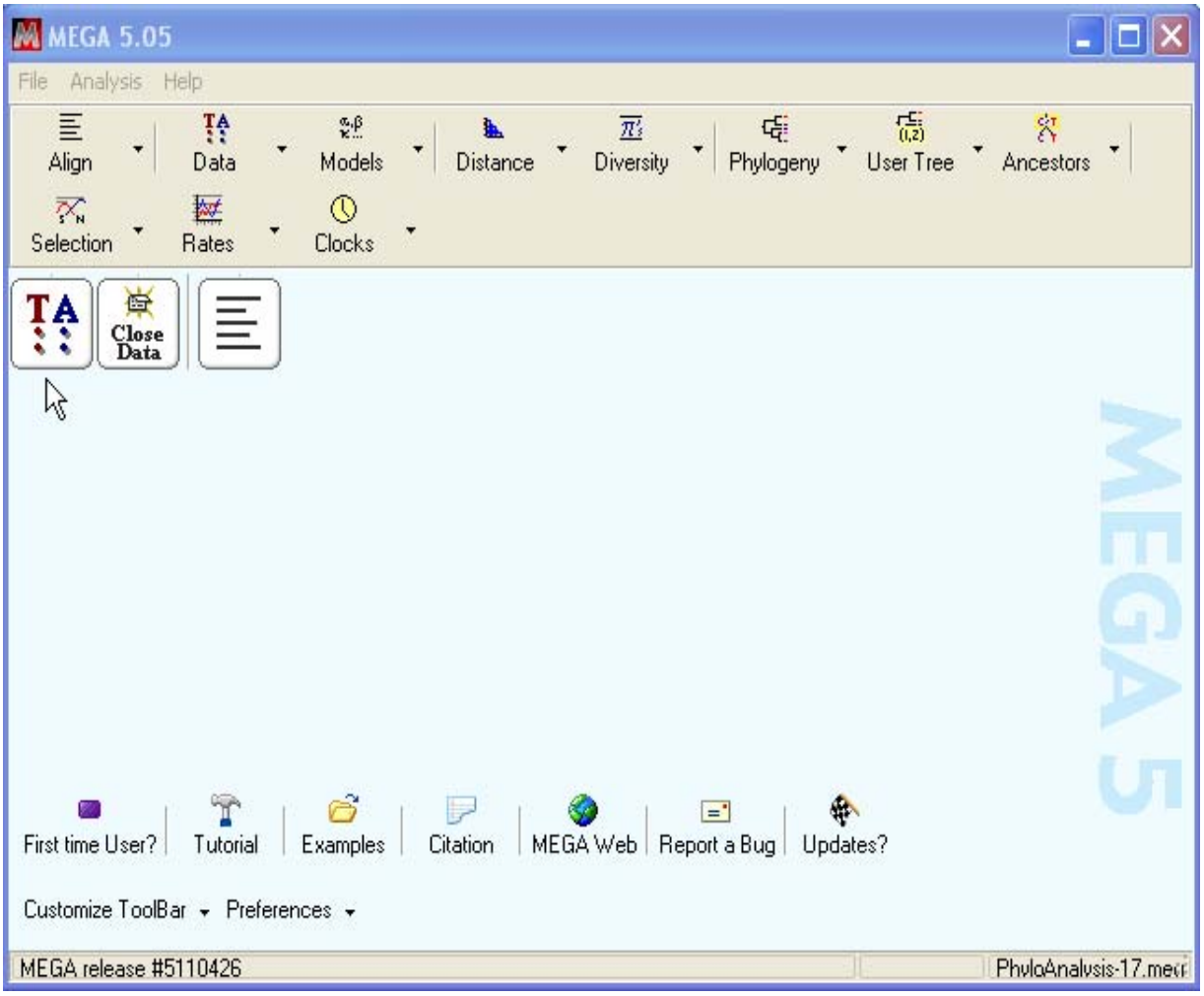
برای این کار بعد از Align کردن داده ها از زبانه Data گزینه phylogenetic analysis را انتخاب میکنیم



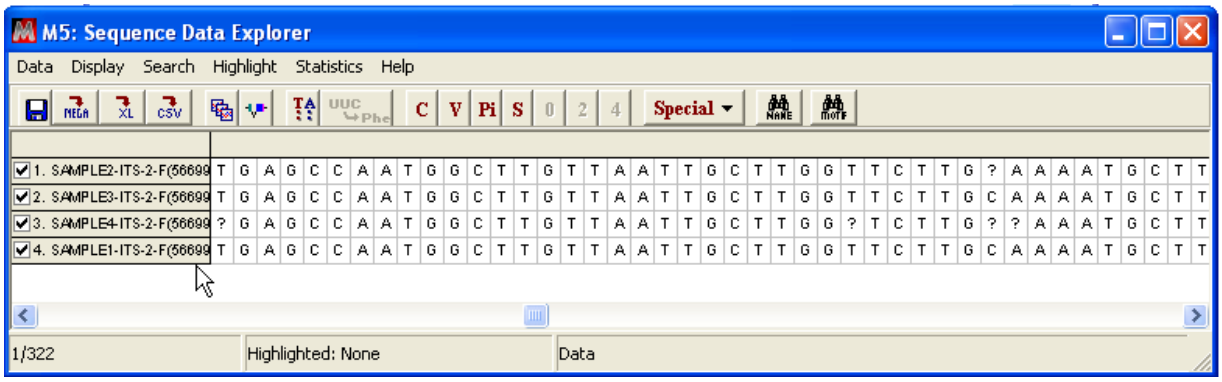
در صورتی که سکانس ها حاوی اطلاعات کد کنند پروتئین هستند در کادر زیر گزینه yes را انتخاب کنید در غیر این صورت گزینه no مناسب تر می باشد.



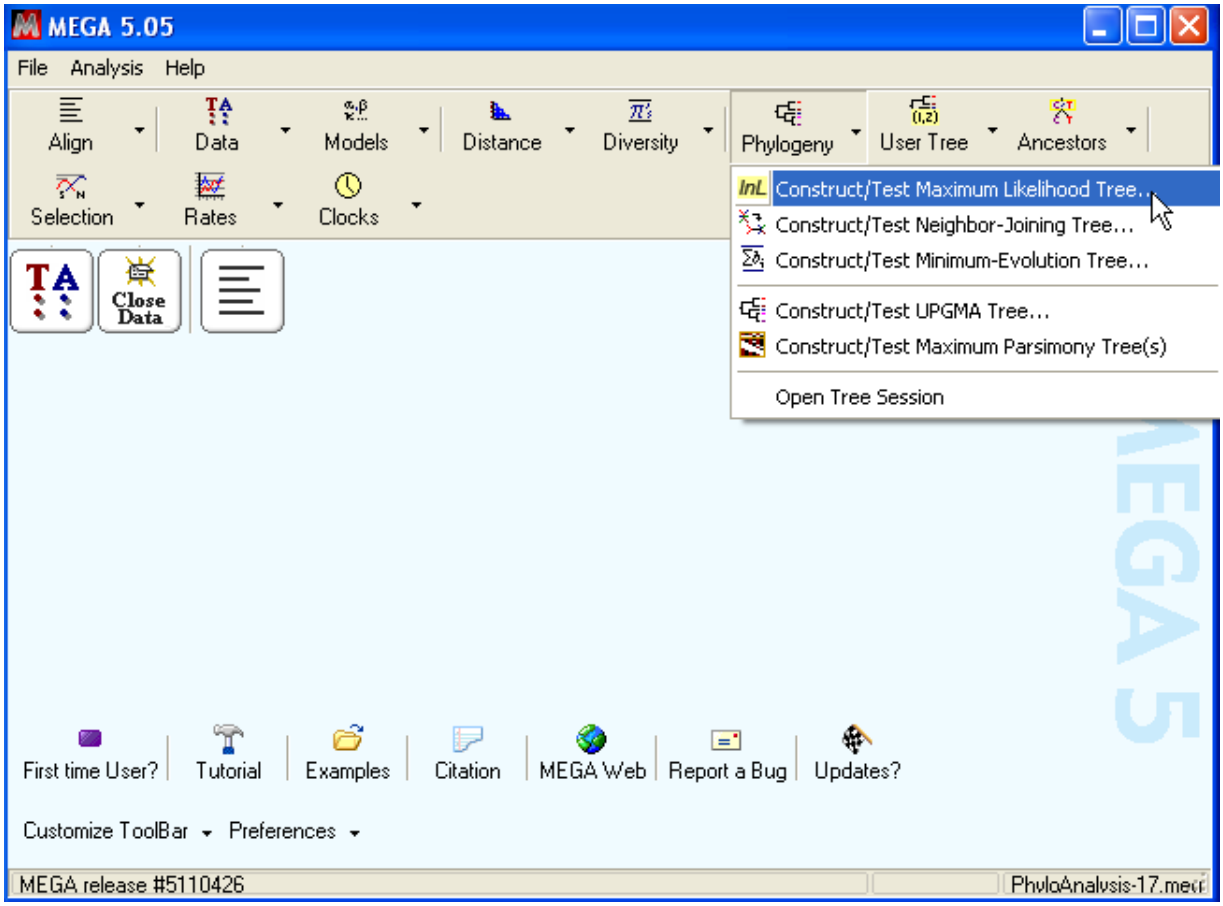
بعد از جواب دادن به سوال فوق به صفحه اصلی نرم افزار بروید که باید مثل شکل پایین باشد . دوتا حرف T و A بزرگ صفحه جدیدی هست(sequence data explorer) که اطلاعات سکانس ها توی اونا ذخیره شده و اماده انالیز می باشد.

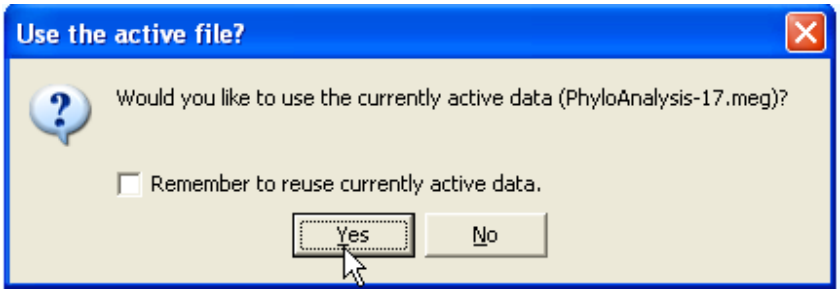


با کلیک کردن بر روی دوتا حرف T و A بزرگ وارد صفحه sequence data explorer می شوید که در ان سکانس های مرتب شده و اماده انالیز، قرار دارند (شکل زیر)

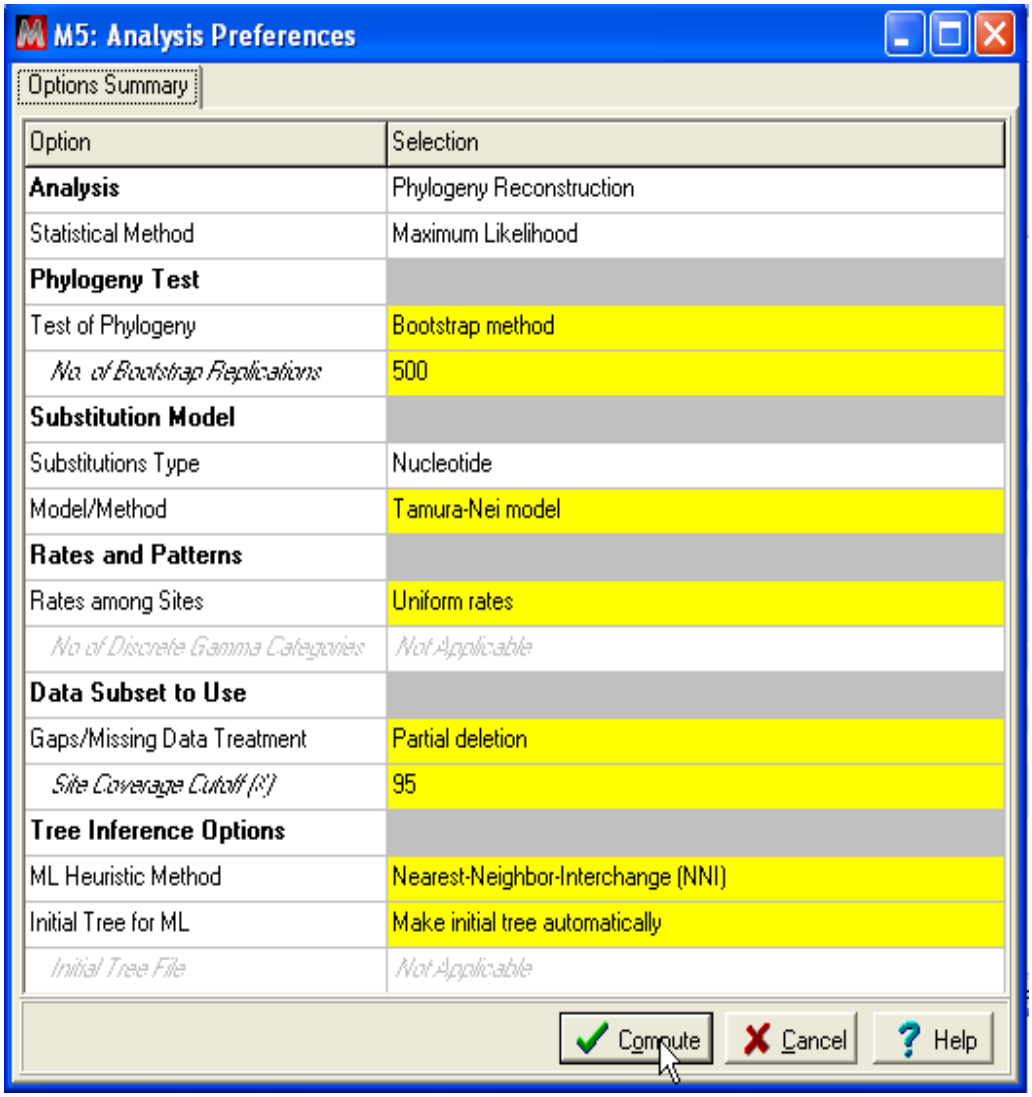


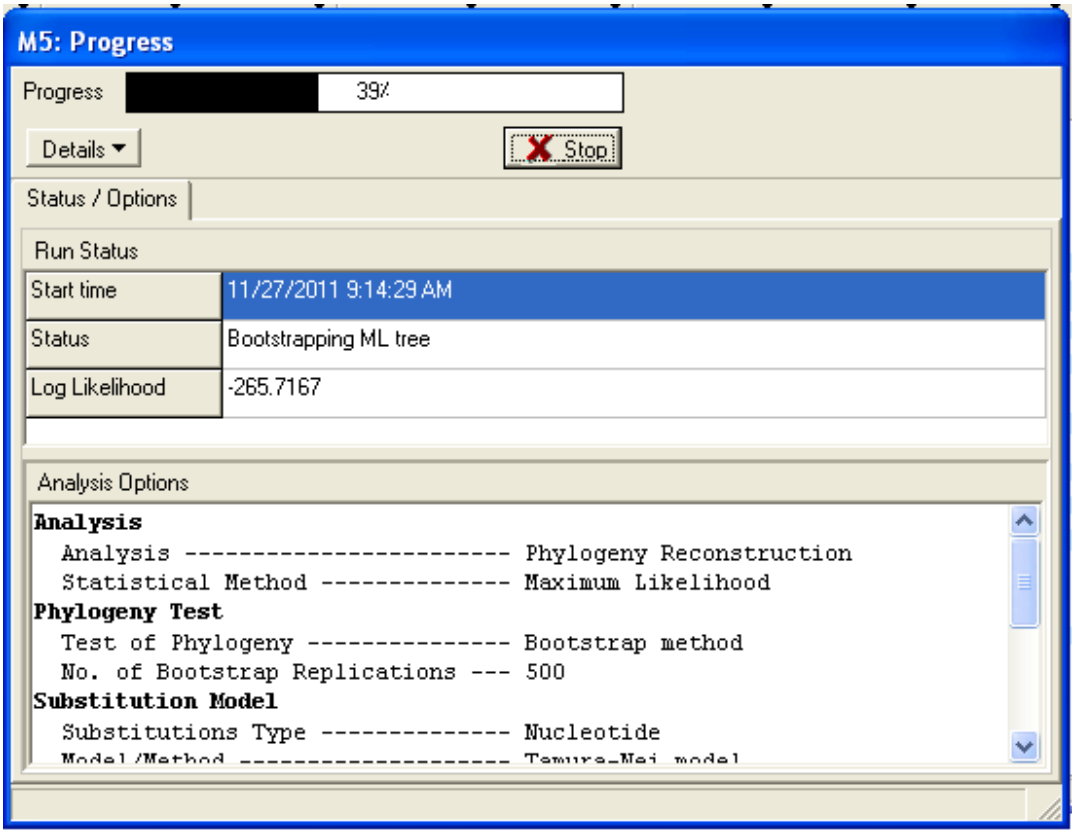
برای رسم درختچه کافی است در صفحه اصلی نرم افزار بروی زبانه phylogeny کلیک کنید و سپس نوع درختچه خود را انتخاب کنید و سپس بروی گزینه yes جواب مثبت بدهید.



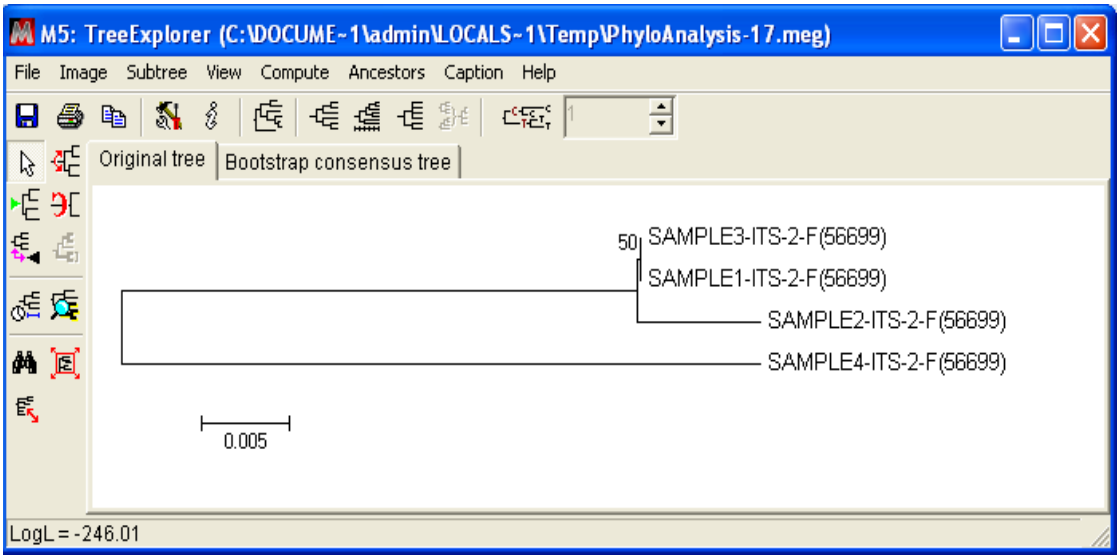


تنظیمات این صفحه بستگی به نظر خود شما و نوع داده هایتان دارد (شاید بهتر باشد از یکی دیگر بپرسید) ولی با زدن compute عملیات رسم درختچه شروع میشه.

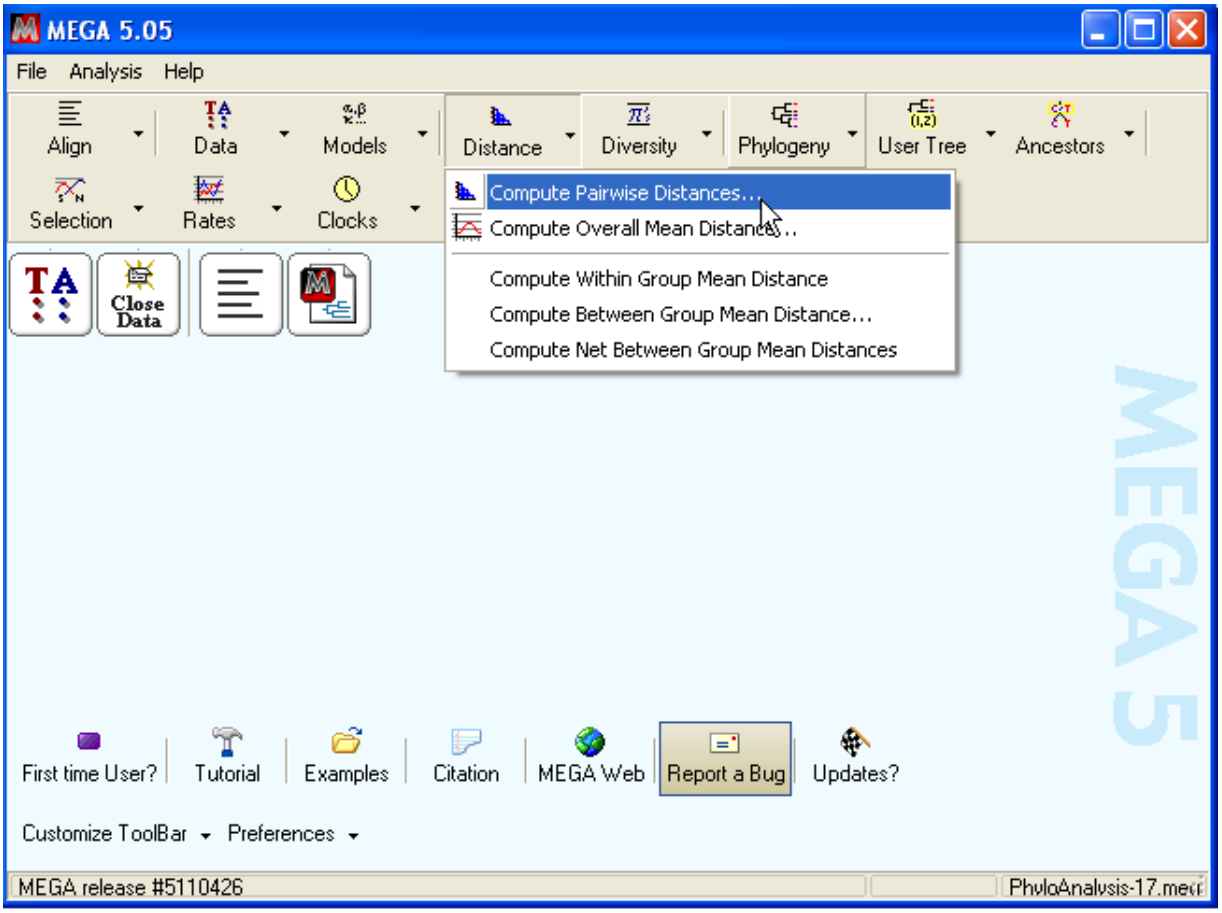


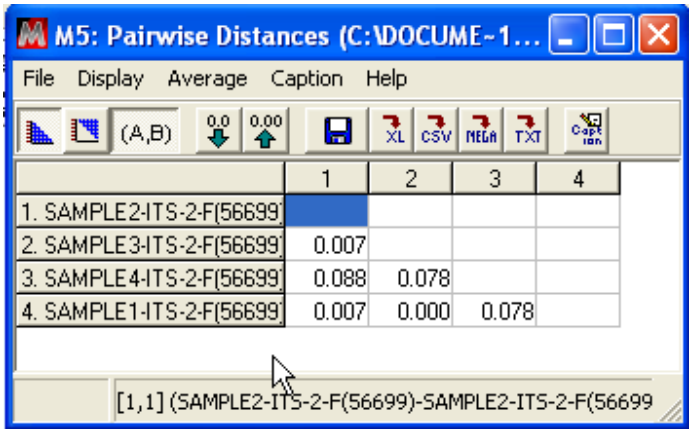


عملیات انالیز داده ها (پنجره فوق ممکن است چند ساعت هم طول بکشد که به تعداد سکانس های شما بستگی دارد
بعد از پایان یافتن انالیز داده ها می توانید درختچه را مشاهده کنید.



برای محاسبه ضرایب ژنتیک بین نمونه ها از صفحه اصلی نرم افزار گزینه distance را انتخاب کنید، برای مشاهده
ضریب تشابه بین نمونه ها گزینه اول (compute pairwis distnces ...) را انتخاب کنید





میزان distance ژنتیکی بین نمونه ها

گردآوري و ترجمه: علي فصيحي