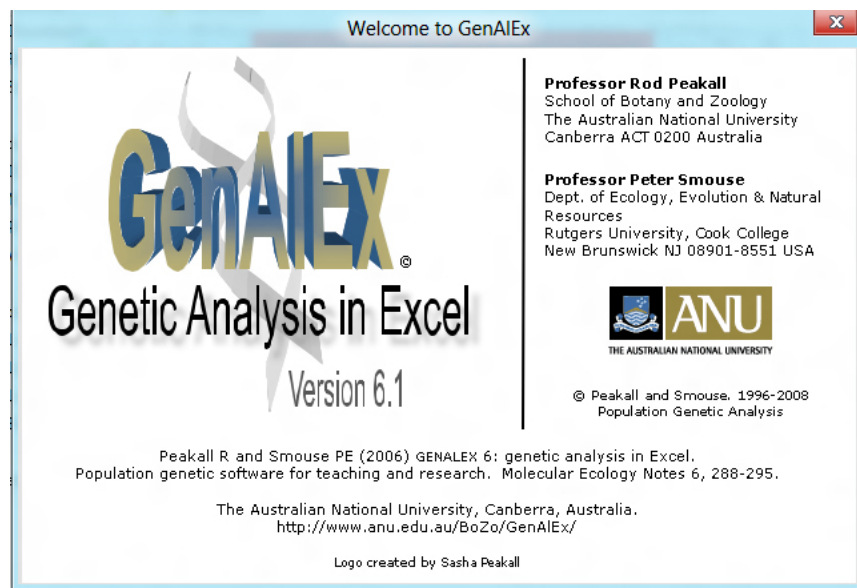


آموزش نرم افزار

GenAlex 6.1

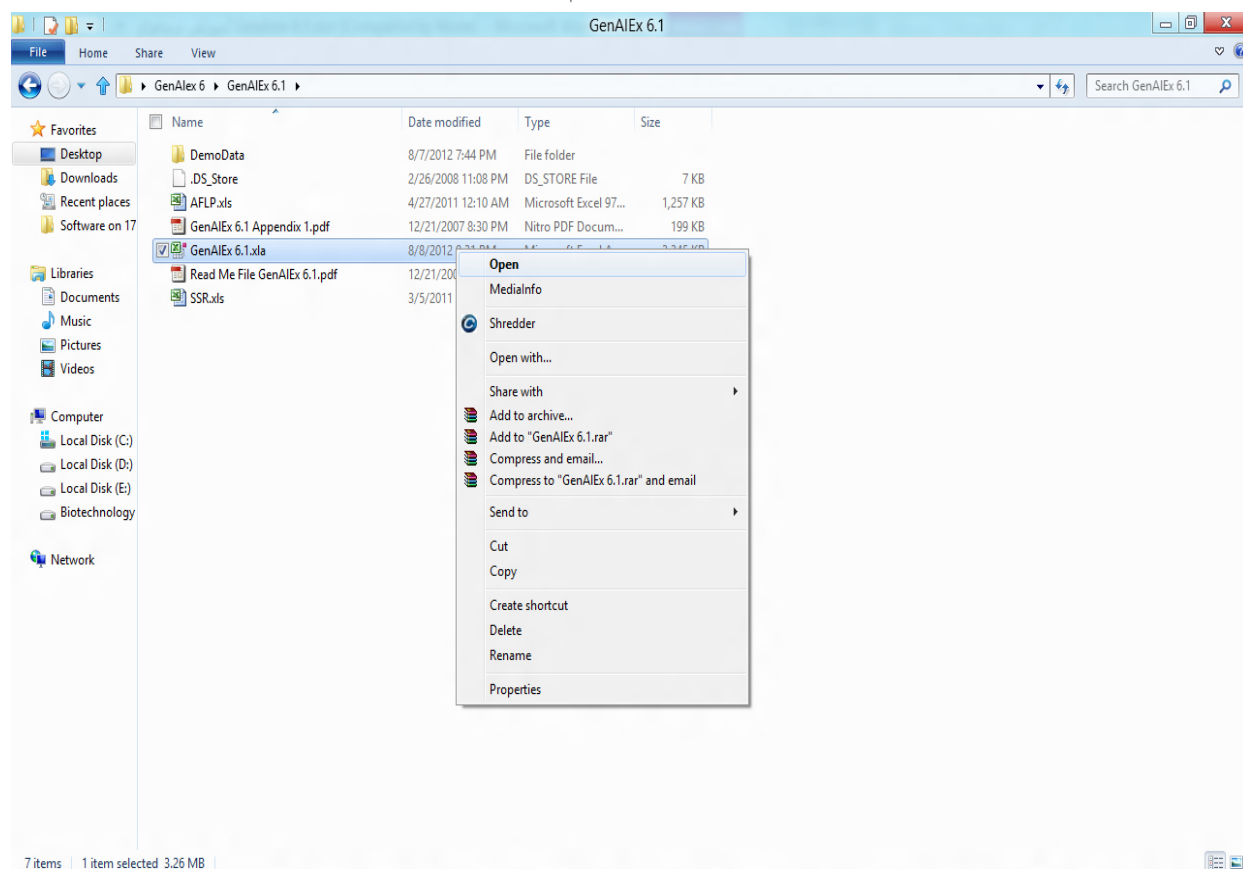


تباستان⁹¹

www.uttest.mihanblog.com

از این نرم افزار می توان برای تجزیه و تحلیل داده های نشانگرهای مولکولی (AFLP, SSR, RAPD و...) و مرفولوژیکی در مقایسات بین جمعیتی و درون گونه ای استفاده کرد. لازم به یادآوری است که سیستم صفر و یک (۱ یا ۰) برای صفات و آلل های که رابطه غالبی و مغلوبی دارند، به کار برده می شود (مثلا در نشانگر مولکولی RAPD و یا هر نشانگر غالب دیگری). سیستم دیگر نمره دهی، استفاده از حروف برای آلل ها و صفاتی است که رابطه هم بارزی^۱ دارند. مثلا حرف a در مورد هر پرایمر (لوکوسی) یعنی، فرد مورد نظر آلل a را دارد و حرف ab یعنی فرد هم بارز مورد نظر دارای آلل ab است. پس در هنگام وارد کردن داده ها در Microsoft Excel حروفی نظیر a, b, c, ab, ac و bc... که بستگی به تنوع و تعداد آلل ها دارد، استفاده می شود.

برای اجرای نرم افزار GenAlex، به پوشه مربوط به نرم افزار بروید و بر روی فایل GenAlex 6.1.xla کلیک کنید (شکل ۱) و Enable Marcos را انتخاب کنید (شکل ۲). با این عمل یک Tab به نام Add-Ins به تب های Microsoft Excel اضافه می شود که در داخل آن نرم افزار GenAlex اضافه شده است (شکل ۳).

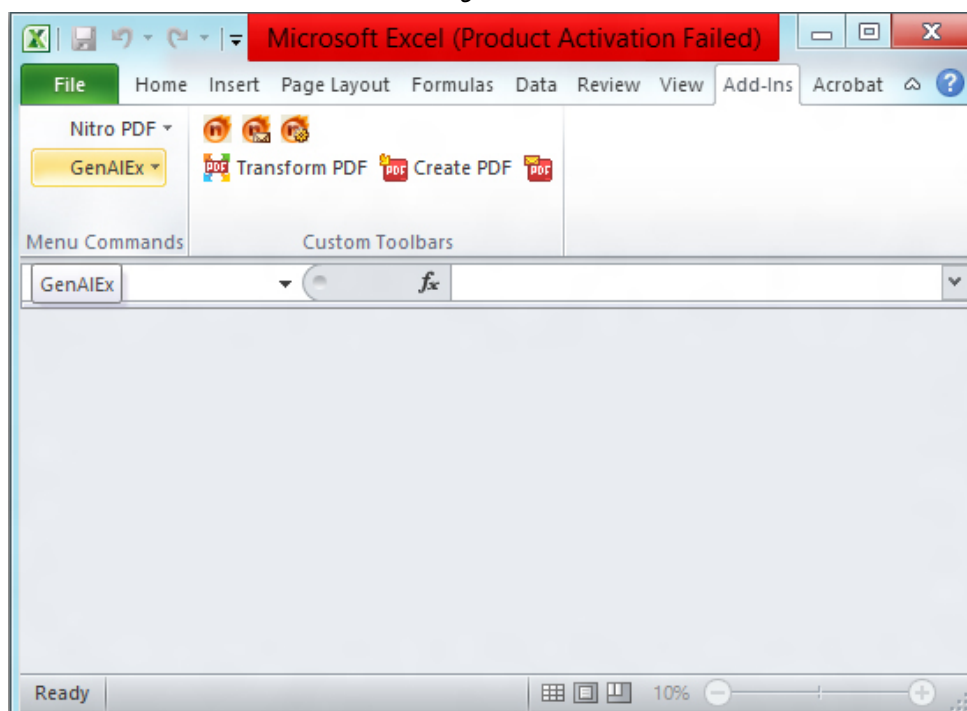


شکل ۱

¹ Co-dominant

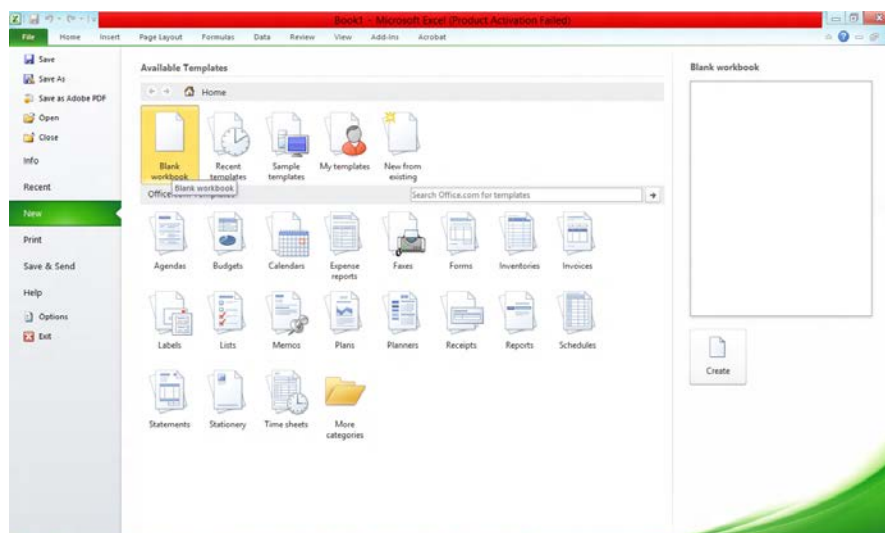


شکل ۲

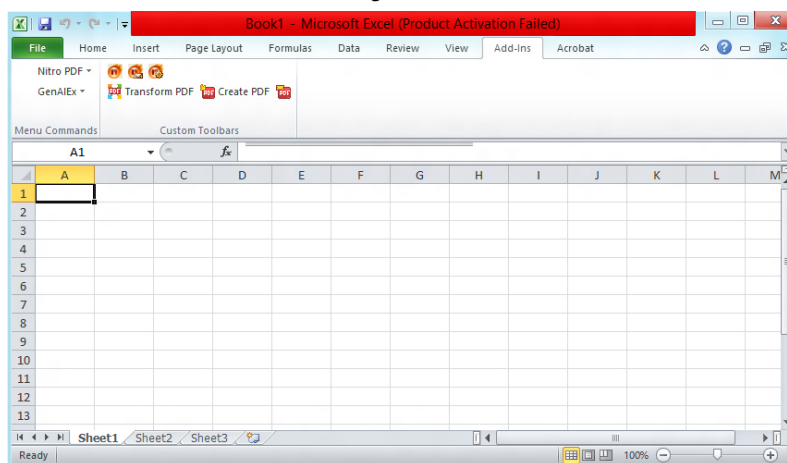


شکل ۳

برای شروع کار با GenAlex، دستورالعمل File-New-Blank workbook (Ctrl+N) را اجرا کنید (اشکال ۴ و ۵).



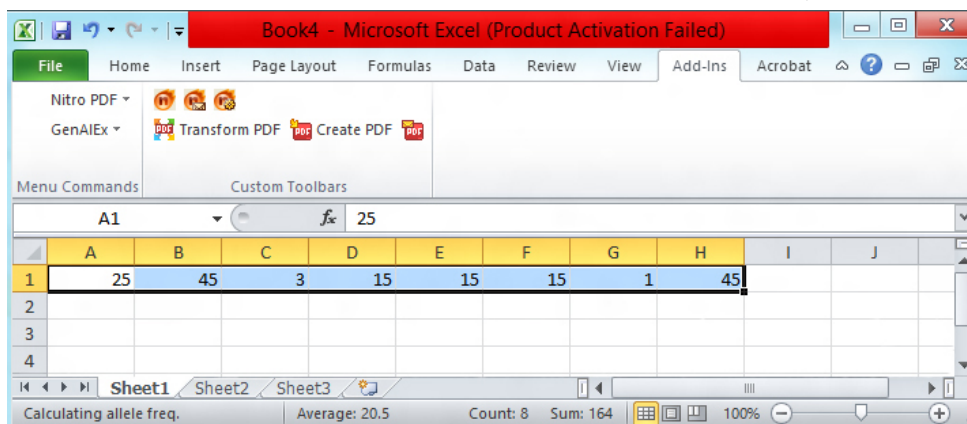
شکل ۴



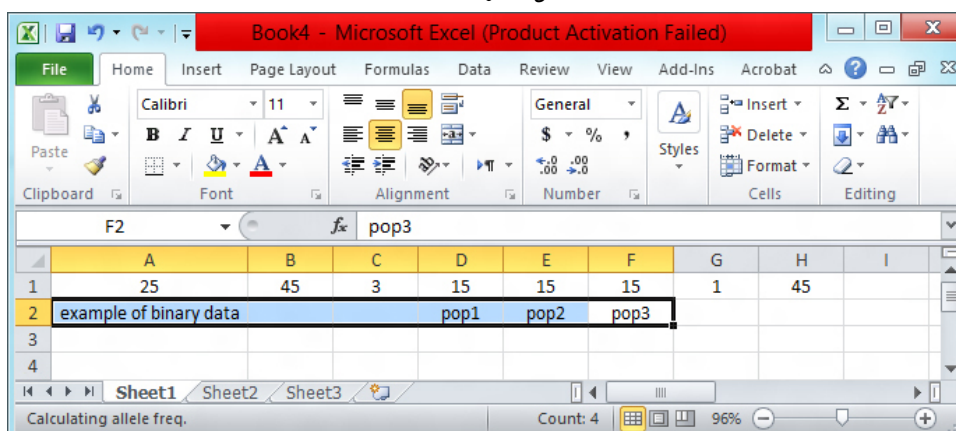
شکل ۵

رعایت فرمت برنامه، مهم ترین نکته در نرم افزار GenAlex است. یادگیری این نرم افزار با یک مثال توضیح داده می شود. در این مثال تعداد لوکوس های مورد بررسی (تعداد پرایمرها یا تیمارها) ۲۵ است که بر روی سه جمعیت با تعداد مساوی که تعداد کل افراد ۴۵ نفر است (تعداد افراد هر جمعیت ۱۵ نفر)، آزمایش شده است که به ترتیب در ردیف اول در Excel از چپ به راست ۲۵ (تعداد لوکوس)، ۴۵ (تعداد کل افراد)، ۳ (تعداد جمعیت)، ۱۵ (تعداد افراد جمعیت اول)، ۱۵ (تعداد افراد جمعیت دوم)، ۱۵ (تعداد افراد جمعیت دوم)، ۱ (این عدد مختص این نرم افزار است و باید در همه کارهای که با این نرم افزار انجام می شود، وجود داشته باشد و دقیقاً در سلول بعد از تعداد افراد جمعیت آخر نوشته می شود) و ۴۵ در آخرین سلول ردیف اول که همان تعداد

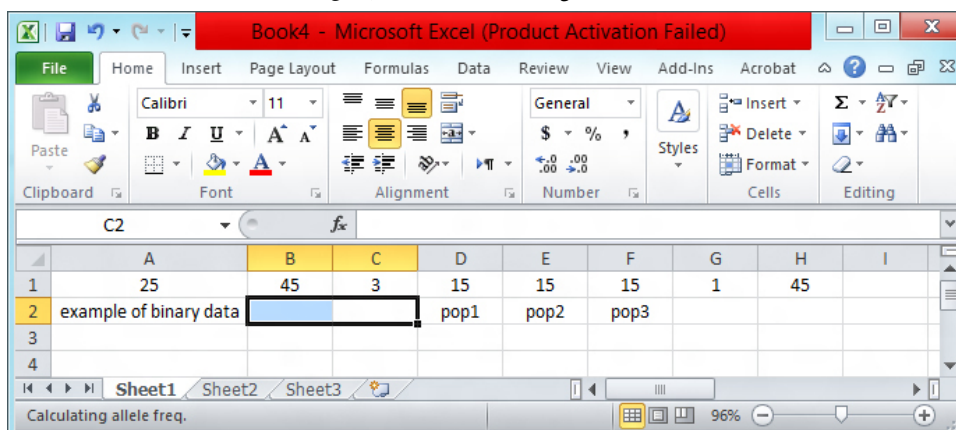
افراد کل مورد بررسی است) نوشته می شود (شکل ۶). در ردیف دوم و ستون اول example of binary data، ستون های بعدی ردیف دوم یعنی ستون دوم و سوم (ستون های B و C) به صورت خالی باقی مانده، و در ادامه به ترتیب از چپ به راست در ستون های D، E و F و دقیقاً در زیر اعداد ۱۵، ۱۵ و ۱۵ که تعداد افراد هر جمعیت را نشان می دهد، نام جمعیت های مورد بررسی (pop1، pop2 و pop3) ذکر می گردد (اشکال ۷ و ۸).



شکل ۶. فرمت GenAlex

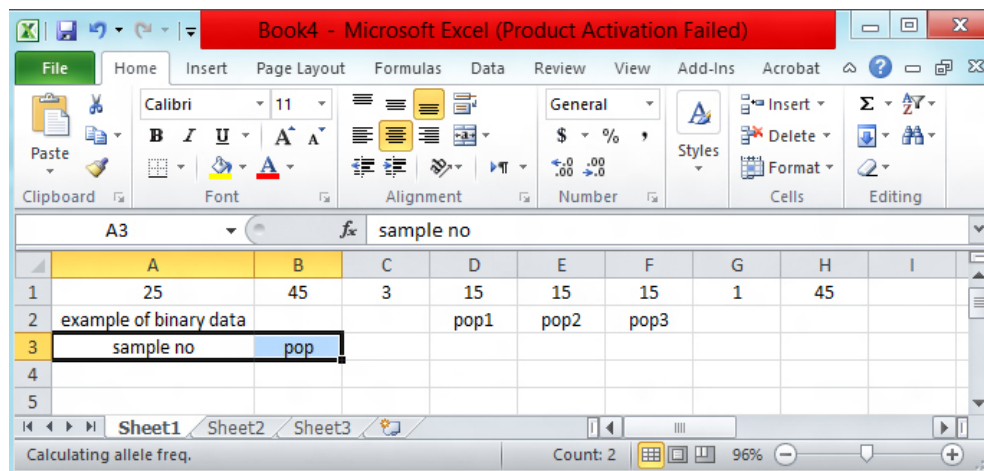


شکل ۷. سه جمعیت مورد بررسی

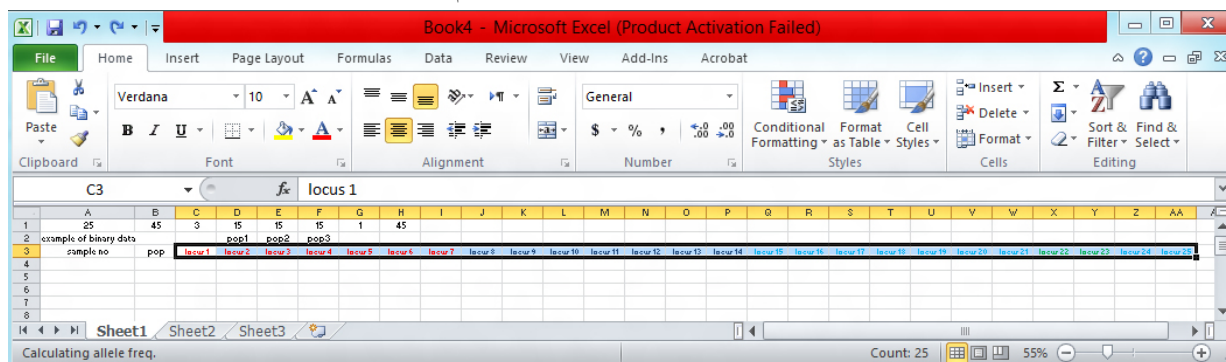


شکل ۸. جاهای خالی در GenAlex مهم هستند

در ردیف سوم به ترتیب از چپ به راست، sample no، pop (شکل ۹) و در ادامه، نام همه ۲۵ لوکوس آزمایش ذکر می گردد (شکل ۱۰).



شکل ۹. فرمت مربوط به ردیف سوم



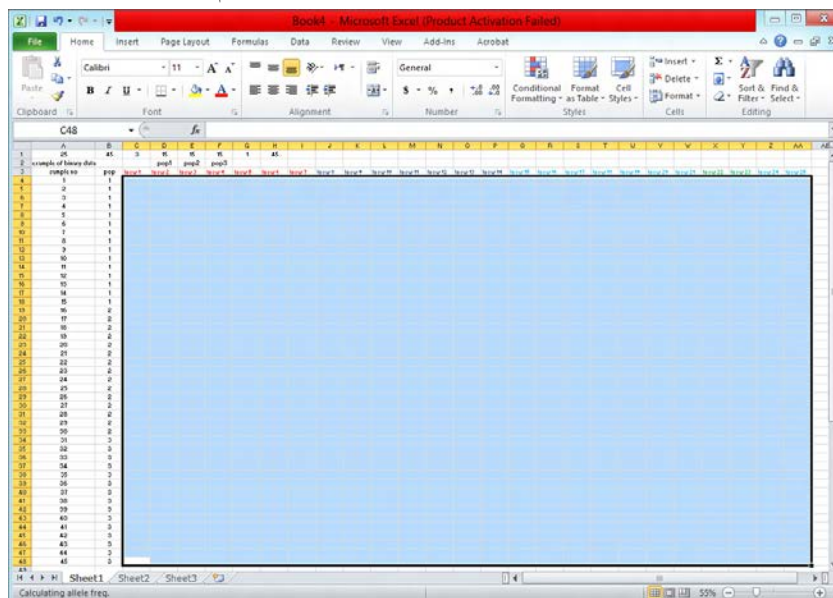
شکل ۱۰. اسامی لوکوس های این مثال که به این صورت برای GenAlex تعریف می شود

از ردیف چهارم و دقیقاً در زیر سلول مربوط به sample no اعداد ۱ تا ۴۵ (تعداد کل افراد همه جمعیت ها) (شکل ۱۱) و از ردیف سوم و دقیقاً در زیر سلول مربوط به pop اعداد ۱ تا ۳ به ترتیب ۱۵ بار (هر کدام از سه جمعیت از ۱۵ تفر تشکیل شده است که در این جا، ابتدا عدد یک، ۱۵ مرتبه در سلول های مربوط به ستون دوم نوشته و سپس این کار را با اعداد دو و سه نیز انجام داده می شود، همچنین لازم به ذکر است که در کارهای عملی، ممکن است تعداد جمعیت ها برابر نباشد! پس به تعداد افراد هر جمعیت این اعداد تکرار می گردد) نوشته می شود (شکل ۱۲).

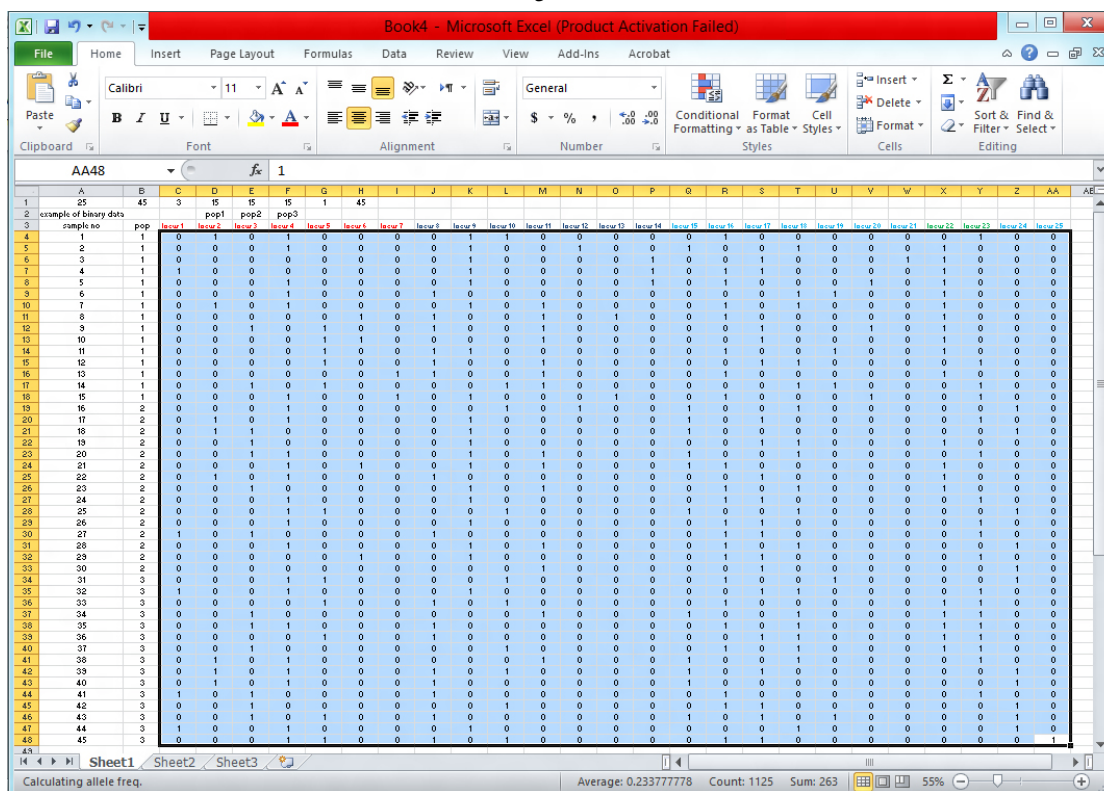
در ستون های زیر هر لوکوس مقدار هر فرد در جمعیت مربوطه را به صورت یک و صفر (برای لوکوس های که رابطه غالب مغلوبی دارند) و یا به صورت حروف a، b و ab (برای لوکوس های هم بارز) وارد کنید (شکل ۱۳) که در این مثال از سیستم صفر و یک استفاده شده است (شکل ۱۴).



شکل ۱۲. تعداد کل افراد ۴۵ فر که در ۳ جمعیت قرار تقسیم شده‌اند



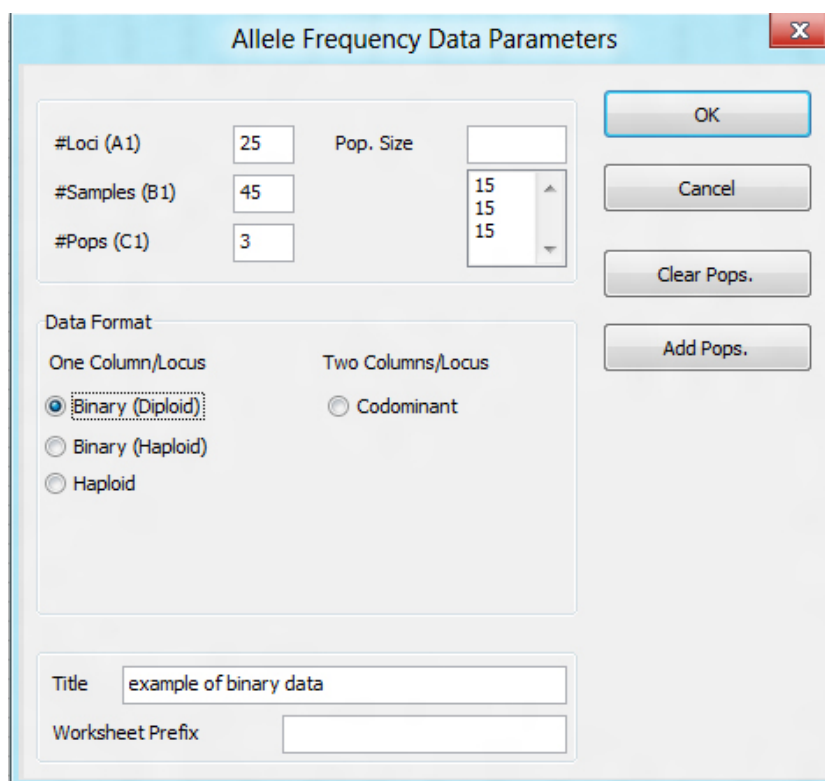
شکل ۱۳



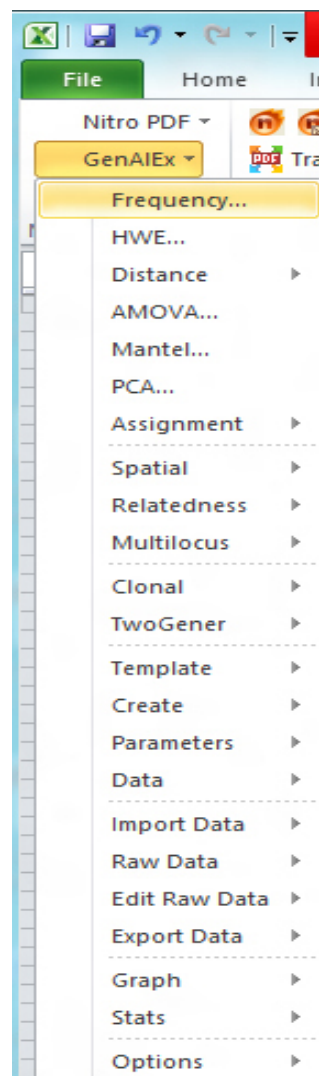
شکل ۱۴

همانند شکل (۱۵)، پس از وارد کردن داده‌ها برای آنالیز داده‌های مولکولی در تب Add-Ins بر روی GenAlex رفته و Frequency را انتخاب نمایید. در پنجره باز شده، می‌توان تمام پارامترهای انتخاب شده

(تعداد لوکوس، کل افراد، جمعیت و افراد هر جمعیت) را چک کرده و حتی آن‌ها را تصحیح کرد و در قسمت Data Format برای موجودات دیپلوئید مثل گیاهان و جانوران Binary Diploid، برای قارچ‌ها و موجودات هاپلوئیدی Binary Haploid و برای صفات هم‌بارز نیز می‌توان Codominant را انتخاب کرد (شکل ۱۶).

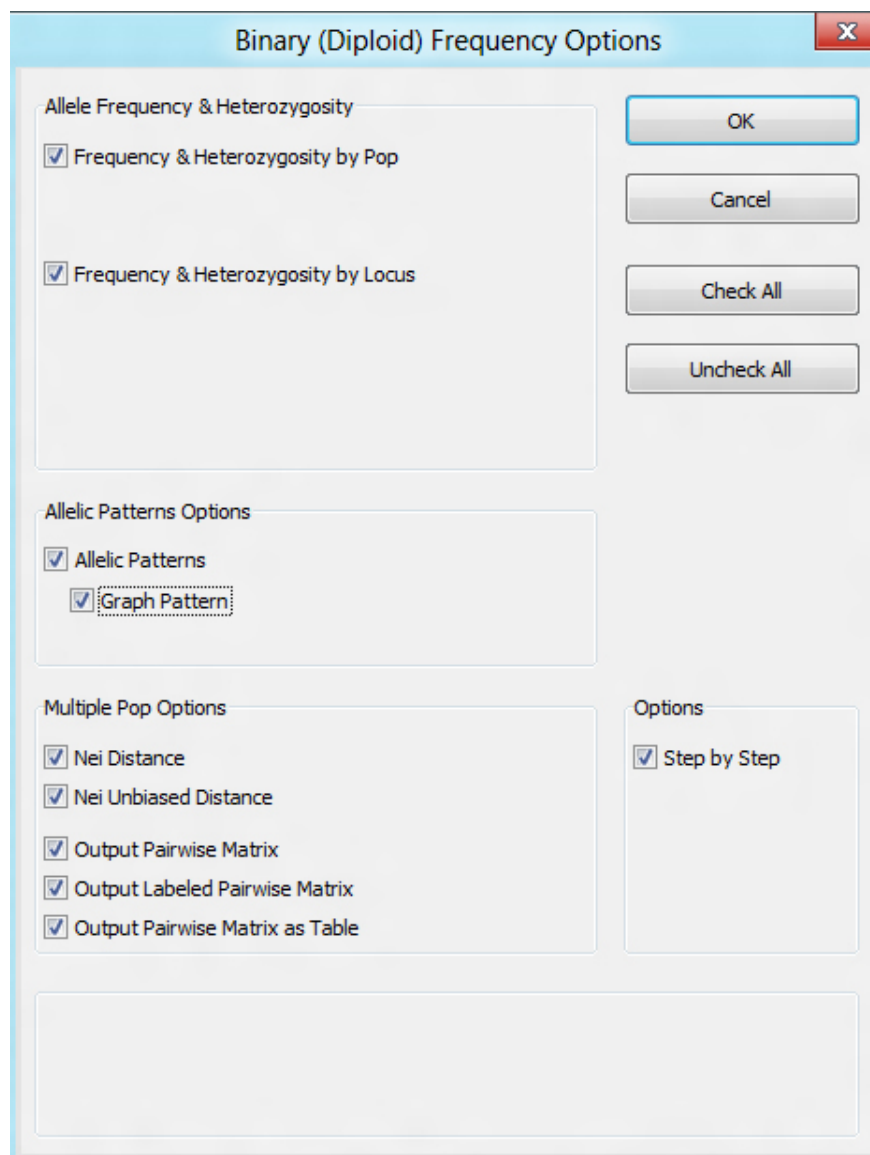


شکل ۱۶



شکل ۱۵

در مرحله بعد، نوع آنالیز را می‌توان انتخاب کرد (آنالیزهای مربوط به جمعیت‌ها و لوکوس‌ها، البته آنالیزهای جمعیت مهم‌تر است) و همه گزینه‌ها ممکن را برای جمعیت‌ها قابل انتخاب هستند (شکل ۱۷).



شکل ۱۷

در نهایت می توان نتایج آنالیزها را در Sheet های Microsoft Excel دید. در AFP Sheet نتایج شاخص های شانون (I)، نسبت p و q (تعداد هاردی-واینبرگ)، Na، Ne، He و UHe را دید. در AFL Sheet نتایج مربوط به هر کدام از جمعیت ها و لوکوس ها را دید. در APT Sheet الگوی بانندی جمعیت ها را در یک نمودار دید. در SybSN Sheet جمعیت ها دو به دو از نظر شاخص ها با هم مقایسه شده اند. در NieP & NeiL & NeiT Sheets جمعیت ها دو به دو از نظر شاخص ماتریکس جمعیت فاصله ژنتیکی و تشخیص Nei با هم مقایسه شده اند (شکل ۱۸).

Book4.xlsx - Microsoft Excel (Product Activation Failed)

FileHomeInsertPage LayoutFormulasDataReviewViewAdd-InsAcrobat

Nitro PDF
GenAIEx

Transform PDF
Create PDF

Menu CommandsCustom Toolbars

Y163

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S
1	Band Frequencies, Estimated Allele Frequencies and Estimated Heterozygosity by Pop for Binary (Diploid) Data																		
2																			
3	Data Sheet	Sheet1																	
4	Data Title	example of binary data																	
5																			
6	No. Loci	25																	
7	No. Samples	45																	
8	No. Pops.	3																	
9																			
10	Band Frequency, Estimated Allele Frequency (p & q), Samples Size, No. Alleles, No. Effective Alleles, Information Index, Expected and Unbiased Expected Heterozygosity																		
11																			
12	Pop	Locus	Band Freq	p	q	N	Na	Ne	I	He	UHe								
13	pop1	locus 1	0.067	0.034	0.966	15.000	2.000	1.070	0.148	0.066	0.068								
14		locus 2	0.133	0.069	0.931	15.000	2.000	1.148	0.251	0.129	0.133								
15		locus 3	0.133	0.069	0.931	15.000	2.000	1.148	0.251	0.129	0.133								
16		locus 4	0.400	0.225	0.775	15.000	2.000	1.537	0.534	0.349	0.361								
17		locus 5	0.333	0.184	0.816	15.000	2.000	1.428	0.477	0.300	0.310								
18		locus 6	0.133	0.069	0.931	15.000	2.000	1.148	0.251	0.129	0.133								
19		locus 7	0.133	0.069	0.931	15.000	2.000	1.148	0.251	0.129	0.133								
20		locus 8	0.400	0.225	0.775	15.000	2.000	1.537	0.534	0.349	0.361								
21		locus 9	0.533	0.317	0.683	15.000	2.000	1.763	0.624	0.433	0.448								
22		locus 10	0.133	0.069	0.931	15.000	2.000	1.148	0.251	0.129	0.133								
23		locus 11	0.467	0.270	0.730	15.000	2.000	1.650	0.583	0.394	0.408								
24		locus 12	0.067	0.034	0.966	15.000	2.000	1.070	0.148	0.066	0.068								
25		locus 13	0.133	0.069	0.931	15.000	2.000	1.148	0.251	0.129	0.133								
26		locus 14	0.200	0.106	0.894	15.000	2.000	1.233	0.337	0.189	0.195								
27		locus 15	0.067	0.034	0.966	15.000	2.000	1.070	0.148	0.066	0.068								

Sheet1

AFP

AFL

APT

SbySN

NeIP

NeiL

NeiT

UNeIP

UNeIL

UNeIT

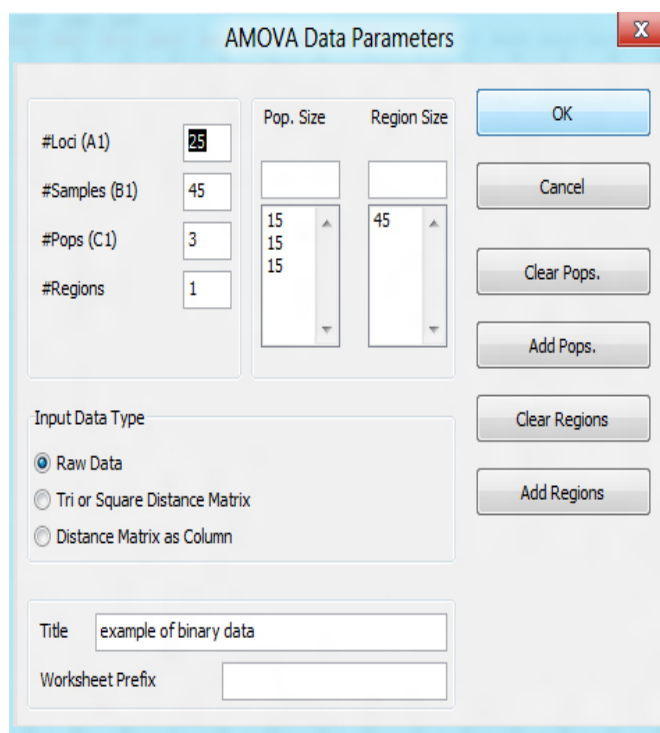
Sheet2

Sheet3

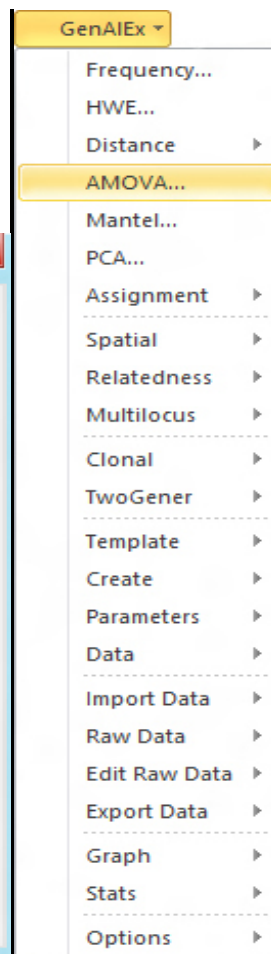
Ready

شکل ۱۸

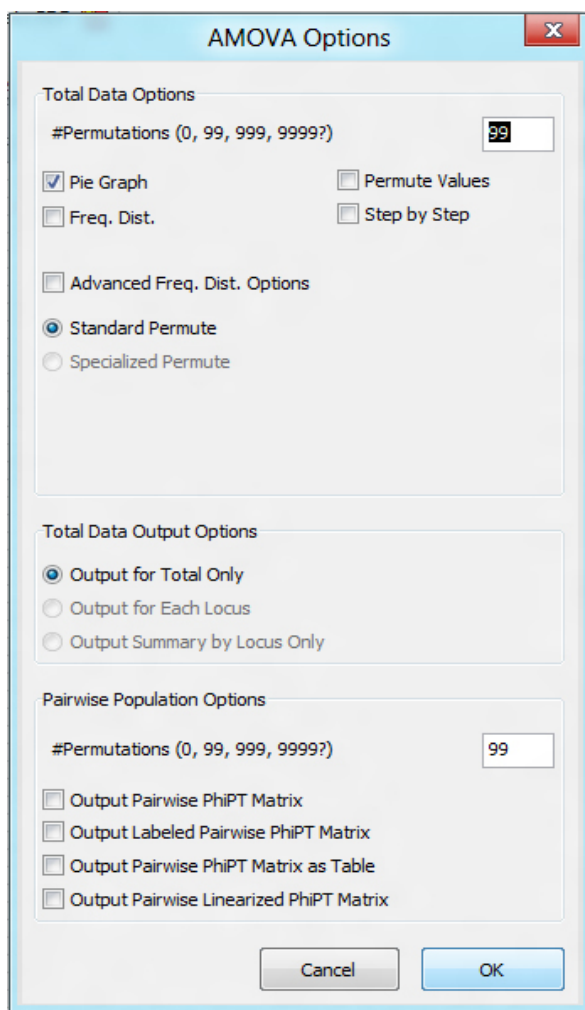
برای بدست آوردن جدول تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA)، مطابق شکل (۱۹) از تب Add-Ins بر روی GenAlex->AMOVA کلیک کرده تا پنجره شکل (۲۰) ظاهر شود. پس از کنترل و صحت پارامترها، بر روی OK کلیک کنید. با دو بار کلیک کردن دیگر (شکل های ۲۱ و ۲۲)، نهایتاً می توان نتایج تجزیه واریانس مولکولی را در Sheet های برنامه Microsoft Excel دید (شکل ۲۳)



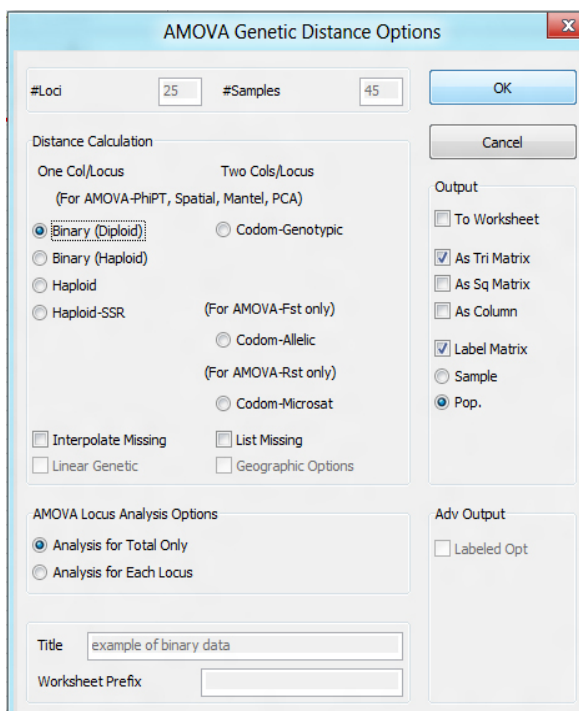
شکل ۲۰



شکل ۱۹



شکل ۲۲



شکل ۲۱

Source	df	SS	MS	Est. Var.	%
Among Pops	2	13.956	6.978	0.214	5%
Within Pops	42	158.133	3.765	3.765	95%
Total	44	172.089		3.979	100%

Stat	Value	P(rand >= data)
PhiPT	0.054	0.020

Probability, P(rand>=data), for PhiPT is based on permutation across the full data set.

PhiPT = AP / (WP + AP) = AP / TOT

Key: AP = Est. Var. Among Pops, WP = Est. Var. Within Pops

شکل ۲۳

www.uttest.mihanblog.com
utgroupstudents@gmail.com

آموزش سایر نرم افزارهای مولکولی موجود در وبلاک:

Chromas ،MEGA 4 ،Oligo Explorer 1.2 ،Path74 ،GenAlex 6.1 ،POPGEN 32