دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

خوشه‌بندی تعدادی از ژن‌های موثر در تولید شیر با استفاده از تئوری اطلاعات و اطلاعات متقابل

هوشنگ دهقان‌زاده[۱]، سید ضیاءالدین میرحسینی[۲]، مصطفی قادری زفره‌یی[۳]، حسن توکلی[۴] و سعید اسماعیل خانیان[۵]

۱- استادیار بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان گیلان، سازمان تحقیقات،آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران، (نویسنده مسوول: H_dehghanzadeh@yahoo.com)
۲- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
۳- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران
۴- استادیار گروه مهندسی برق، دانشکده فنی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
۵- دانشیار موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
تاریخ دریافت: ۹۶/۷/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۷/۶/۳۱
صفحه: ۱۱۷ تا ۱۳۲

چکیده

نظریه اطلاعات، شاخه‌ای از ریاضیات است. از تئوری اطلاعات در تجزیه و تحلیل‌های ژنتیکی و بیوانفورماتیکی استفاده گردیده و می‌توان از آن در آنالیزهای مربوط به ساختارها و توالی‌های زیستی نیز استفاده نمود. در این پژوهش بعد از استخراج توالی DNA ژن و اگزون‌های موثر بر تولید شیر در گاو شیری، فراسنجه آنتروپی در مراتب یک الی چهار برای هر ژن و اگزون‌های هر ژن محاسبه شد. برای استخراج تشابه میان ژن‌ها از یکدیگر، از اطلاعات متقابل بین ژن‌ها استفاده شد. نتایج با استفاده از هفت روش معمول خوشه‌بندی شدند. با توجه به تعدد نتایج، جهت افزایش دقت و تجمیع نتایج حاصل، از الگوریتم آدابوست استفاده گردید. در پایان جهت تایید نتایج حاصل از آدابوست و پیش‌بینی عملکرد ژن‌ها و ارتباط بین آن‌ها، با مراجعه به تارگاه GeneMANIA نتایج بر اساس حاشیه‌نویسی ژنومی آن‌ها مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. تجمیع نتایج هر خوشه‌بندی که با الگوریتم آدابوست انجام شد و خود نوعی درخت ژنی را تداعی می‌کند، نشان داد که روش پیشنهادی برای خوشه‌بندی مجموعه‌ای از ژن‌ها، از نظر زیستی جواب معقولی را حاصل می‌کند چرا که با نتایج حاشیه‌نویسی ژنومی ژن‌های حاصل در تارگاه GeneMANIA مطابقت داشت. اعتقاد بر این است که روش ارائه شده برای ایجاد درخت ژنی با سایر روش‌های متکی به توالی DNA برای خوشه‌بندی مجموعه‌ای از ژن‌ها، می‌تواند رقابت نماید و لذا می‌تواند در گروه‌بندی ژن‌های سایر گونه‌ها نیز به کار رود.

واژه‌های کلیدی : آنتروپی، اطلاعات متقابل، تئوری اطلاعات، خوشه‌بندی ژن، گاو شیری

مقدمه

مطالعه روی ژن‌های موثر در تولید شیر می‌تواند گامی مهم برای شناسایی و توسعه انتخاب به کمک نشانگر و تدوین برنامه‌های اصلاح نژادی برای بهبود این صفات در صنعت تولید شیر به شمار آید (۴،۱۷،۳۳،۴۵،۵۶). در طی سالیان گذشته سامانه داده‌های بیولوژیکی با نرخ بسیار بالایی تولید و پایگاه‌های اطلاعاتی جهت ثبت و پذیرش و نگهداری توالی ژن‌ها و پروتئین‌های مختلف جانداران ایجاد گردید. در اصلاح نژاد دام با در دست بودن ژن‌های مرتبط با صفات تولیدی مثل تولید شیر، این امکان وجود دارد که میزان اطلاعات ذخیره شده در بخش‌های مختلف آنها را با استفاده از نظریه اطلاعات[۱] بررسی و با تفسیر زیستی نتایج حاصله، رهیافت جدیدی را برای افزایش تولید شیر و یا دستکاری‌های ژنی با اهداف متفاوت ایجاد کرد.

امروزه جهان شاهد ظهور ابزارها و الگوریتم‌های رایانشی[۲] جدید جهت آزمایش و فرموله کردن فرضیه‌هایی همچون چگونگی سازماندهی و تکامل ژنوم و رویت یک فنوتیپ مشخص از یک ژنوم رمز نگاری شده است. نظریه اطلاعات، شاخه‌ای از ریاضیات است که با مهندسی ارتباطات، زیست شناسی و پزشکی هم‌پوشانی دارد این نظریه در سال ۱۹۴۸ توسط کلود شانون ارائه شدکه به کشف و بررسی قوانین ریاضی حاکم بر رفتار داده‌ها در مراحل انتقال، ذخیره و بازیابی اختصاص دارد. از نظریه اطلاعات در تجزیه و تحلیل‌های ژنتیکی و بیوانفورماتیکی استفاده گردیده و می‌توان از آن جهت بسیاری از تحلیل‌های مربوط به ساختارها و توالی‌های زیستی استفاده نمود (۲۹).

آنتروپی[۳] شانون هسته اصلی نظریه اطلاعات است و گاهی اوقات تحت عناوینی مثل اندازه عدم قطعیت یا میزان تصادفی بودن[۴]، درهم ریختگی و پیش‌بینی‌ناپذیری[۵] شناخته می‌شود. اطلاعات، مقیاس عدم اطمینان یا آنتروپی در یک موقعیت است، هرچه عدم قطعیت (آنتروپی) یک سامانه بیشتر باشد، اطلاعات آن نیز بیشتر خواهد بود. وقتی موقعیّتی کاملا قابل پیش‌بینی است، هیچ اطلاعاتی در مورد آن وجود ندارد. این وضعیّت را استحکام (نگو آنتروپی[۶]) می‌گویند (۴۱). واحد آنتروپی بیت[۷] است و آنتروپی یک سامانه با میزان اطلاعات موجود در آن مرتبط است. سامانه با نظم بیشتر می‌تواند با بیت‌های کمتری از اطلاعات توصیف شود، در حالیکه سامانه‌ای با نظم کمتر برای توصیف شدن به بیت‌های بیشتری از اطلاعات نیازمند است (۱۶).

گاتلین در سال ۱۹۷۲ یک نسخه کلاسیک در کاربرد نظریه اطلاعات برای سامانه‌های زنده ارائه داد: حیات یک سامانه پردازش اطلاعات می‌باشد که از طریق تکامل، توانایی ذخیره و پردازش اطلاعات لازم برای بازساخت خود را بدست می‌آورد. گاتلین در واقع حیات را به عنوان یک فرآیند اطلاعاتی تعریف کرد. او راه را برای استفاده از یک چارچوب تحلیلی قدرتمند برای سیستم‌های بیولوژیکی بوسیله نظریه خود هموار ساخت (۱۲).

1- Information theory 2- Computational 3- Entropy 4- Randomness 5- Unpredictability
6- Nego Entropy 7- Bit

از نظریه اطلاعات به عنوان ابزاری مهم و به چند صورت برای جستجوی الگوهایی در توالی‌های DNA (۴۵)، نقش آمینو اسیدها در ساختار پروتئین‌ها در مخمر(۲۵)، تحلیل جایگاه‌های صفات کمی[1] و اپیستاسیس[2] (۳۹)، بررسی اطلاعات ژنوم جهانی[3] (۳۰)، تحلیل داده‌های ریزآرایه DNA (۲۰)، طبقه‌بندی ژن‌های درگیر در سرطان (۳۶)، مقایسه اندازه پیچیدگی برای آنالیز توالی‌های DNA (۳۱،۲۸،۱۶)، بازساخت درختان فیلوژنتیکی بدون همردیف کردن بازها (۳۵)، پژوهش‌های تکاملی(۱۲)، تنوع ژنتیکی (۴۲)، مقایسه محتوای اطلاعات نواحی اینترون و اگزون ژن‌ها (۵۲) و تحلیل زیر گونه‌های انگل کریپتوزپوریدیوم[4] (۳۲) استفاده شده است.

پس از کامل شدن برخی از پروژه‌های تعیین توالی ژنوم، علاقه‌مندی به روشن شدن و یافتن اینکه چطور سیستم‌های زنده در همه سطوح اطلاعات بیولوژیکی عمل می‌کنند، بوجود آمد و به دنبال آن به محققین امکان بازسازی شبکه‌های متابولیکی در مقیاس بزرگ ژنی با استفاده از روش‌های توپولوژیک داده شد. یکی دیگر از آنالیزهای توپولوژیک در شبکه‌های بیولوژیک، آنالیز کلاسترینگ[5] می‌باشد که نشان‌دهنده دسته‌بندی شبکه به قسمت‌های مختلف (کلاستر) است. در چند دهه اخیر چندین روش برای خوشه‌بندی ژن‌ها و پروتئین‌ها پیشنهاد شد اغلب این روش‌ها بر اساس همترازی ژن‌ها بود که با استفاده از سیستم‌های امتیازدهی بدست می‌آمدند. تعدادی از فیلوژنی‌ها بوسیله روش‌های معمول و با همترازی توالی ها ساخته می‌شود اما با توجه به اینکه بسیاری از توالی‌ها بزرگ هستند و روش‌های استاندارد بر اساس مقایسه هر نوکلئوتید به نوکلئوتید متناظر توالی دیگر استوار است در یک رنج بالا کارایی را پایین و کمی مشکل و غیر ممکن می‌سازد (۵۷). این روش ها خوشه‌بندی دقیقی از توالی‌های بیولوژیکی فراهم می‌نماید و در این راستا چندین الگوریتم توسعه و به طور موفقیت‌آمیزی به کار گرفته شدند (۲۶،۲۲،۱۰).

همترازی‌های چندگانه توالی‌ها[6]، یک روش مشهور برای طبقه‌بندی توالی‌های DNA می‌باشد هرچند که با محدودیت‌های اساسی در پیچیدگی محاسباتی مواجه می‌باشد. روش‌های همترازی آزاد همچون روش K-mer هم در چند دهه گذشته برای مقایسات و طبقه‌بندی توالی‌های DNA متداول گشته که کارآمدتر از روش‌های همترازی چند گانه هستند (۶). هر چند در اغلب روش‌های همترازی آزاد ممکن است اطلاعات ساختاری و عملکردی توالی های DNA از دست رفته باشد زیرا همه آنها بر اساس استخراج ویژگی عمل می نمایند. همچنین ممکن است به طور کامل تفاوت‌های واقعی میان زنجیره‌های DNA منعکس نشود لذا روش‌های همترازی آزاد با حفظ اطلاعات برای مقایسات با دقت بیشتر برای طبقه‌بندی DNA مورد نیاز می‌باشد. تاکنون روش‌های مختلف و جدیدی برای بازسازی درخت فیلوژنی بدون همترازی توالی‌ها پیشنهاد گردیده است، مثل آنالیز بر اساس مولفه‌ها[7] (۱۱)، روش تجزیه مقادیر منفرد[8] (۴۴،۴۳)، روش دستوری دینامیک[9] و روش مدل مارکف[10] (۴۳،۳۷) و روش‌های فراکتال[11] (۵۴،۵۳).

روابط فیلوژنتیک میان ژن‌ها و موجودات با یک درخت فیلوژنتیک توصیف می شود. ساخت درخت فیلوژنی از توالی‌های DNA دارای دو فاز اصلی است: اولین فاز ساخت ماتریس فاصله حاصل از اندازه‌گیری جفتی دو توالی DNA با استفاده از همترازی چندگانه یا همترازی آزاد[12] و فاز دوم ساخت درخت فیلوژنی از ماتریس فاصله با استفاده از روش‌های ساخت درخت، که اغلب الگوریتم‌های معمول برای مقایسات بیولوژیکی توالی‌ها بر اساس همترازی توالی‌ها است. در عین حالی‌که همترازی چندگانه یک نقش اساسی در مقایسه توالی‌ها بازی می‌کند و به صورت معمول برای خوشه‌بندی توالی‌های DNA و پروتئین استفاده می‌شود (۵۱) اما پیچیدگی محاسباتی و نیاز به حافظه بالا برای توالی‌های با طول بزرگ دارد (۲۳،۱۰). به‌علاوه اغلب روش‌های همترازی چندگانه به مینیمم کردن تعداد الحاق و حذف شکاف‌ها[13] در توالی‌های DNA منجر گردیده است بنابراین روش‌های همترازی چندگانه در توالی‌هایی که شامل نواحی همولوکوس ضعیف یا جهش باشد که اکثر بخش‌های توالی‌های ژنومیکی درگیر آن هستند ممکن است یک ناهمترازی ایجاد نماید. برای رفع این مشکلات در همترازی‌های چندگانه، تحقیقات قابل توجهی روی همترازی‌های آزاد صورت پذیرفت. بلایزدل (۲) برای اولین بار یک روش همترازی آزاد بر اساس فراوانی کلمات K-mer توالی‌های DNA ارائه داد. این روش بطور وسیعی اینک در آنالیز ژنومیک به عنوان یک روش همترازی آزاد به کار می‌رود (۴۸،۴۰،۲۱،۸).

هرچند روش‌های معمول همترازی آزاد ممکن است مشکلاتی که همترازی چندگانه ایجاد می‌نماید را حل نماید اما اغلب این روش‌ها نیاز به توان محاسباتی و فضای حافظه بالا دارد و یک نکته مهم این است که در اغلب این روش‌ها محتوای اطلاعات درون توالی DNA از دست می‌رود و صحت خوشه بندی داده‌های توالی کاهش می‌یابد (۶).

در این مقاله یک روش جدید برای خوشه‌بندی ژن ها و ژنوم‌ها ارائه شده است. یک روش همترازی آزاد با استفاده از اطلاعات متقابل بر اساس فاصله توالی‌های DNA جهت خوشه‌بندی آنها ارائه شد که این فاصله بر اساس بردار ماتریسی از توالی‌های DNA بود. تازگی این روش این بود که با استفاده از تئوری اطلاعات و اطلاعات متقابل توالی‌های با طول متفاوت توانستند بدون همترازی مورد مقایسه قرار گیرند.

اطلاعات متقابل می‌تواند اطلاعات مشترک بین دو توالی را محاسبه و توصیف نماید و بدین ترتیب می‌توان از آن به عنوان معیاری جهت اندازه‌گیری تشابه و تفاوت دو توالی استفاده کرد (۵۵). که این بسیار سودمند می باشد زیرا اطلاعات کدشده توالی‌های بیولوژیک و وقوع اتفاقات تکاملی اشتراکات دو توالی با یک جد مشترک را تفکیک و جدا می‌سازد که منتج به از دست رفت اطلاعات مشترکشان می‌گردد (۹).

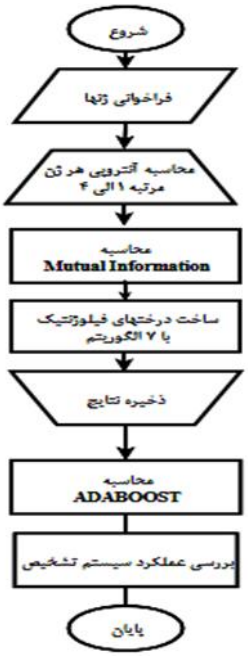
1- Quanitative trait locus (QTL) 2-Epistasis 3- Global genomic information 4- Cryptosporidium 5- Clustering
6- Multiple sequence alignment (MSA) 7- Principal component analysis (PCA)
8- Singular value decomposition (SVD) 9- Dynamical language method 10- Markov model method
11- Fractal methods 12- Alignment-free methods 13- GAPS

اطلاعات متقابل ارائه شده مبتنی بر آنتروپی می‌باشد و محاسبه اطلاعات متقابل نیاز به دانستن آنتروپی منابع مورد مقایسه می‌باشد. در روش ارائه شده اطلاعات متقابل در رتبه‌های ۱ تا ۴ آنتروپی برای هر توالی DNA محاسبه گردید و در هر مرتبه از محاسبه آنتروپی ماتریس تشابه–فاصله آن ایجاد و سپس جهت افزایش صحت خوشه‌بندی در هر رتبه از آنتروپی، آنها را به طور جداگانه با ۷ روش معمول در خوشه‌بندی سلسله مراتبی آنالیز نمودیم. تعدد نتایج خوشه‌بندی حاصل از روش‌های یاد شده باعث شد که با این سوال مواجه که بهترین نتیجه حاصل کدام است و تفسیر نتایج بر اساس کدام دسته‌بندی باید صورت پذیرد برای حل این مشکل از روش ترکیب نتایج استفاده شد. استفاده از ترکیب نتایج چند دسته‌بند، یکی از روش‌های افزایش کارایی و صحت سیستم‌های بازشناسی الگو است که در سال‌های اخیر محققین زیادی به آن پرداخته‌اند. لذا برای بهبود صحت دسته‌بندی پس از استفاده از دسته‌بندهای مختلف که برای نتایج هر بخش از محاسبات اطلاعات متقابل از آنها استفاده گردید از ترکیب نتایج خروجی به عنوان بهترین نتیجه جهت تفسیر بیولوژیک ژن‌ها استفاده شد. این روش اغلب تحت عنوان سیستم‌های طبقه‌بند چندگانه[1] و یا سیستم‌های شورایی خوانده می شود. یکی از مطرح ترین این روش‌ها آدابوست[2] می‌باشد که فروند و شاپیر (۱۳،۱۴) آن را معرفی نمودند که از آن زمان توجه زیادی را در حوزه هوش مصنوعی و یادگیری ماشینی به خود جلب کرده است.

مواد و روش‌ها

استخراج توالی‌های DNA ژن‌ها

گزارش شده است که در کل، حدود ۶۸۷۵ ژن وجود دارد که روی تولید شیر در پستانداران موثر هستند. بعضی ازاین ژن‌ها فقط در غده پستانی بیان می‌شوند و بعضی دیگر در بافت‌های دیگری مثل کبد، کلیه، ماهیچه ها و غیره نیز بیان می‌شوند (۲۷). ژن‌های مورد بررسی در این مقاله از نتایج پژوهش لمی و همکاران (۲۷) انتخاب گردیدند. در مقاله یاد شده، ۳۰ ژن از دسته ژن‌های پستانی موثر در تولید شیر مربوط به گاوهای تلیسه[3] به‌صورت تصادفی انتخاب و مورد بررسی و واکاوی قرار گرفتند. توالی و همچنین سایر اطلاعات ژن‌ها از جمله اندازه هر ژن، محتوای گوانین–سیتوزین[4]، شماره دست‌یابی[5]، تعداد و طول هر اگزون[6] و جایگاه آن بر روی کروموزوم از بانک ژنی NCBI[7] دریافت و سپس با پیکربندی فستا[8] ذخیره گردیدند. (جداول ۱ و ۲ فایل ضمیمه).



شکل ۱– روند اجرای پژوهش
Figure 1. Workflow of this research

جهت آماده‌سازی اطلاعات استخراج شده از پایگاه داده به دلیل زیاد بودن حجم اطلاعات ژن‌ها و اگزون‌های مربوط به آن، نرم‌افزاری طراحی شد که به طور هوشمند، ویژگی‌های ژن‌ها را استخراج کرد. لذا در این نرم‌افزار با توجه به خواسته پژوهش، خروجی‌های مناسب بدست آمدند. برای ایجاد این نرم‌افزار از زبان برنامه‌نویسی C# استفاده شد.

محاسبه مراتب[9] آنتروپی

نظریه اطلاعات کلاسیک بر روی تابع زیر و خواص و تعبیرهای آن که تابع آنتروپی یا تابع شانون نامیده می‌شود بنا شده است. ژنوم می‌تواند به‌عنوان یک رشته طویل و متشکل از یک الفبا (Ω) با ۴ سمبل (A,T,C,G) در نظر گرفته شود که هر کدام از آن‌ها ممکن است در یک موقعیت معین از

1- Multiple classifier system
2- AdaBoost
3-Virgin mammary gene set
4- C-G content
5- Accession number
6- Exone
7- http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/gene
8- Fasta
9- Orders

رشته DNA جای گرفته باشند که می‌شود احتمال هر کدام از این کاراکترها را f(A)=f(T) و f(C)=f(G) بوسیله وقوعشان در توالی خطی ژنوم برآورد کرد. از این‌رو با شمارش تعداد A، T، C و G موجود در ژنوم و ظهور همه آنها در موقعیت‌هایی در ژنوم و نرمال کردن آنها به فراوانی‌های نسبی، آنتروپی ژنوم را می‌توان نتیجه گرفت (۳۸،۱۲).

در این پژوهش برای هر ژن و اگزون هر ژن، فراسنجه آنتروپی در مراتب یک الی چهار محاسبه شد. در این راستا از زنجیره مارکف تا درجه ۳ استفاده شد. برای محاسبه آنتروپی مرتبه اول (مرتبه صفر زنجیره مارکف[1]) از فرمول زیر استفاده شد:

$$H(x)_I = -\sum_{i=1}^{n} p_i \log_2 p_i$$

که i و j نشانگر آگاهی از وقوع دو نوکلئوتید قبلی است و $p_{i,j}(k)$ احتمال وقوع نوکلئوتید k به شرط وقوع نوکلئوتیدهای i و j از مجموعه {A، T، G، C} در توالی DNA ژن است.

آنتروپی مرتبه دوم (مرتبه یک زنجیره مارکف) با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$H(x)_{II} = -\sum_{i=1}^{n} p_i \sum_{j=1}^{n} p_i(j) \log_2 p_i(j)$$

که i نشانگر وقوع نوکلئوتید قبلی و $p_i(j)$ هم احتمال وقوع نوکلئوتید j به شرط وقوع نوکلئوتید i از مجموعه {A, T, G, C} زنجیره DNA است. آنتروپی مرتبه سوم (مرتبه دو زنجیره مارکف) نیز با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$H(x)_{III} = -\sum_{i=1}^{n} p_i \sum_{j=1}^{n} p_i(j) \sum_{k=1}^{n} p_{i,j}(k) \log_2 p_{i,j}(k)$$

که i و j نشانگر آگاهی از وقوع دو نوکلئوتید قبلی است و $p_{i,j}(k)$ احتمال وقوع نوکلئوتید k به شرط وقوع نوکلئوتیدهای i و j از مجموعه {A، T، G، C} در توالی DNA ژن است.

آنتروپی مرتبه چهارم (مرتبه سوم زنجیره مارکف) با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$H(x)_{IV} = -\sum_{i=1}^{n} p_i \sum_{j=1}^{n} p_i(j) \sum_{k=1}^{n} p_{i,j}(k) \sum_{m=1}^{n} p_{i,j,k}(m) \log_2 p_{i,j,k}(m)$$

که j، i و k: نشانگر آگاهی از وقوع ۳ نوکلئوتید قبلی است و $p_{i,j,k}(m)$: هم احتمال نوکلئوتید m: به شرط وقوع نوکلئوتیدهای i, k و j از مجموعه {A، T، G، C} در توالی DNA ژن است. همان‌طور که نشان داده شده در کل ۴ مرتبه آنتروپی محاسبه شد. محاسبه آنتروپی هم برای طول کل ژن‌ها و هم اگزون‌ها انجام شد. برای هر مرتبه از آنتروپی یک توالی تصادفی متناظر (RH) با فرض تصادفی بودن توالی نیز محاسبه شد تا میزان تصادفی بودن توالی ژن مورد مقایسه قرار گیرد (جدول ۱). در ضمن، اندیسی که در H ظاهر می‌شود نشان‌دهنده مرتبه آنتروپی مورد نظر است.

محاسبه اطلاعات متقابل ژن‌ها و اگزون‌های آنها

هرگاه دو متغیر تصادفی (X,Y) داشته باشیم که لزوماً ازهم مستقل نباشند تابع آنتروپی یا اطلاعات به طورطبیعی به شکل زیر تعریف می شود: (رابطه ۱)

$$H(X,Y) := -\sum_{x,y} p(x,y) \log_2 p(x,y)$$

درحالتی‌که دو متغیرتصادفی مستقل باشند یعنی $p(x;y) = p(x)\,q(y)$ از رابطه (۱) می توان نتیجه گرفت : (رابطه ۲)

$$X \perp Y \Rightarrow H(X,Y) = H(X) + H(Y)$$

دو متغیر تصادفی (X,Y) توزیع آن‌ها با تابع $P(x,y)$ مشخص می‌شود را در نظر می‌گیریم. فرض کنید که مقدار یکی از متغیرهای تصادفی مثل Y را می‌دانیم و این مقدار برابر است با y. در این صورت توزیع متغیر تصادفی X عوض خواهد شد و تبدیل خواهد شد به توزیع $P(X \mid y)$ که درآن y یک پارامتر است و X مقادیر متغیر را به خود می‌گیرد. می‌دانیم که:

$$H(X|y) := -\sum_{x} P(x|y) \log_2 P(x|y)$$

اگر بخواهیم بدانیم که به طور متوسط دانستن یک مقدار از Y چه مقدار اطلاعات در X باقی می‌گذارد باید روی $H(X \mid y_i)$ متوسط بگیریم بنابراین خواهیم داشت: رابطه (۳)

$$\begin{aligned} &= -\sum_{x,y} P(x,y) \log_2 P(x|y) = -\sum_{x,y} P(x,y) \log_2 \frac{P(x,y)}{P(y)} \\ &= H(X,Y) - H(Y). \end{aligned}$$

به همان دلیلی که تابع $H(X)$ مثبت است تابع $H(X \mid y_i)$ و در نتیجه تابع $H(X \mid Y)$ نیز مثبت خواهند بود. $H(X \mid Y)$ را اطلاعات X مشروط به Y می‌خوانیم و این کمیت بیان‌کننده میزان اطلاعات باقیمانده در X است هرگاه ما مقادیر Y را دانسته باشیم. باید توجه داشت که این تابع متقارن نیست یعنی $H(X|Y) \neq H(Y|X)$

از رابطه (۳) به این نتیجه می‌رسیم : رابطه (۴)

$$H(X,Y) = H(X|Y) + H(Y) = H(Y|X) + H(X)$$

اگر دومتغیر تصادفی X,Y مستقل باشند آنگاه دانستن Y هیچ تاثیری دراطلاعات باقیمانده در X نخواهد داشت و درنتیجه:

$$H(X|Y) = H(X)$$

و بنابر رابطه (۴):

$$H(X,Y) = H(X) + H(Y)$$

بالعکس هرگاه X و Y کاملاً به هم وابسته باشند انتظار داریم که دانستن Y برای دانستن X نیز کفایت کند یعنی هیچ

1- Markov chain

اطلاعی در X باقی نگذارد یعنی $H(X \mid Y)=0$ که باتوجه به رابطه ۴ به این معناست که: $H(X,Y) = H(Y)$.
اطلاعات متقابل دردومتغیرتصادفی X و Y به شکل زیرتعریف می‌شود: رابطه (۵)

$$I(X:Y) := H(X) + H(Y) - H(X,Y)$$

این کمیت نسبت به دومتغیر تصادفی X و Y متقارن است. با توجه به رابطه (۴) می‌توان آن را به شکل زیر بازنویسی کرد: رابطه (۶)

$$I(X:Y) := H(X) - H(X|Y)$$

قبل از آنکه مقدار Y را بدانیم، اطلاعات موجود در X با $H(X)$ سنجیده می‌شد. با دانستن Y این اطلاعات به $H(X \mid Y)$ تقلیل پیدا می‌کند. بنابراین تفاوت این دو میزان اطلاعی است که Y درباره X حمل می‌کند. $I(X : Y)$ یک کمیت نامنفی است.

بر این اساس اطلاعات متقابل برای تمامی ژن‌ها و اگزون‌های مورد بررسی به طور جداگانه بر اساس آنتروپی تا مرتبه ۳ زنجیره مارکف محاسبه شد.

ساخت درخت فیلوژنی و ترکیب نتایج حاصل از خوشه‌بندی

معیار بدست آمده فاصله اطلاعات متقابل در مجموعه ژن‌ها و اگزون‌ها، به‌عنوان ورودی ۷ روش معمول خوشه‌بندی *'Single'*[۱]، *'Complete'*[۲]، *'Average'*[۳]، *'Weighted'*[۴]، *'Centroid'*[۵]، *'Median'*[۶] و *'KMeans'* به کار رفتند و خوشه‌بندی ژن‌ها یا درخت‌های ژنی بدست آمدند. در این مقاله تنها خوشه حاصل از روش *UPGMA* و *Nearest distance* آورده شده و بقیه در فایل ضمیمه قابل مشاهده می‌باشد. برای ترکیب نتایج ۲۸ خوشه ایجاد شده حاصل از ۷ الگوریتم بالا و ترکیب نتایج خوشه‌بندی‌ها، از الگوریتم آدابوست[۷] برای ترکیب نتایج خوشه‌بندی استفاده شد و با ترکیب این دسته‌بندها کارایی دسته‌بندی افزایش داده شد (۱۴،۱۳). در پایان، جهت تایید نتایج حاصل از آدابوست و بررسی همخوانی نتیجه خوشه‌بندی ژن‌ها با داده‌های حاشیه نویسی ژنوم آن‌ها، از *server GeneMANIA prediction*[8] استفاده شد و نتایج مورد بررسی قرار گرفت (۵۰). برای محاسبات از امکانات مرکز ملی ابررایانش شیخ بهایی دانشگاه اصفهان[9] استفاده شد. همه محاسبات با کمک نرم‌افزار مهندسی متلب (۲۰۱۵) انجام گرفت.

نتایج و بحث

اطلاعات ۳۰ ژن مورد پژوهش در جدول ۱ و ۲ فایل ضمیمه قابل مشاهده می‌باشد. بررسی مشخصات ژن‌ها نشان داد، دو ژن *NOP2* و *YWHAH* (به ترتیب با طول ۶۰۱۶۷ و ۱۴۴۵) از نظر اندازه، بزرگترین و کوچکترین ژن‌های مورد بررسی در این پژوهش بودند. ژن‌های مورد بررسی در کل دارای ۲۱۱ اگزون بودند، اگزون شماره ۱ ژن *HSP6* و اگزون شماره ۱ ژن *ACTR2* (به‌ترتیب با طول‌های ۲۶۲۲ و ۱۰) بزرگترین و کوچکترین اگزون‌های مورد بررسی در این پژوهش بودند. همچنین ژن‌های *EIF3L* و *DGCR8* با ۱۳ اگزون و ژن‌های *HPS6* و *YWHAH* با ۱ اگزون بیشترین و کمترین تعداد اگزون را در این بررسی دارا بودند. مقادیر آنتروپی و آنتروپی تصادفی رشته متناظر کلیه ژن‌ها درهر رتبه در جدول ۱ آمده است.

1- Nearest distance (single linkage method)
2- furthest distance (complete linkage method)
3- Unweighted pair group method average (UPGMA, group average)
4- Weighted pair group method average (WPGMA)
5- Unweighted pair group method centroid (UPGMC)
6- Weighted pair group method centroid (WPGMC)
7- AdaBoost
8- http://www.genemania.org
9- Sheikh Bahaei National High Performance Computing Center (SBNHPCC) Isfahan University

جدول ۱- آنتروپی محاسبه شده مراتب مختلف و آنتروپی تصادفی متناظرشان در توالی DNA ژن‌های موثر در تولید شیر گاو

Table 1. Calculated different of entropy orders and their corresponding random entropies in cow's milk governing genes

شماره	نماد ژن	آنتروپی/آنتروپی تصادفی رتبه ۱ $H(x)_I/RH(x)_I$	آنتروپی/آنتروپی تصادفی رتبه ۲ $H(x)_{II}/RH(x)_{II}$	آنتروپی/آنتروپی تصادفی رتبه ۳ $H(x)_{III}/RH(x)_{III}$	آنتروپی/آنتروپی تصادفی رتبه ۴ $H(x)_{VI}/RH(x)_{VI}$
۱	*EIF3L*	2.0000/1.9871	3.9994/3.9327	5.9980/5.8699	7.9920/7.7993
۲	*DES*	1.9991/1.9878	3.9986/3.9176	5.9929/5.8338	7.9677/7.7275
۳	*HPS6*	1.9994/1.9617	3.9917 /3.8513	5.9842/5.7134	7.9056/7.5078
۴	*FAM192A*	1.9999/1.9566	3.9996/3.8667	5.9979/5.7688	7.9928 /7.6626
۵	*COPS6*	1.9999/1.9931	3.9973/3.9388	5.9701/5.8660	7.9375/7.7404
۶	*YWHAH*	1.9983/1.9994	3.9940/3.9649	5.9527/5.9045	7.8605/7.7365
۷	*NSUN3*	2.0000/1.9551	3.9998/3.8665	5.9990/5.7703	7.9966/7.6681
۸	*CALM1*	1.9998/1.9913	3.9984 /3.9504	5.9910/5.8955	7.9734 /7.8161
۹	*CD34*	1.9999/1.9974	3.9996 /3.9404	5.9975/5.8681	7.9926/7.7877
۱۰	*TBC1D20*	1.9998/1.9899	3.9995/3.9345	5.9974/5.8681	7.9900/7.7917
۱۱	*HTRA2*	1.9997/1.9872	3.9966 3.9364/	5.8759/5.9837	7.9315 7.7743/
۱۲	*SLC35A3*	1.9332/1.9995	3.8293/3.9994	5.7152/5.9962	7.5880/7.9857
۱۳	*CNOT8*	1.9736/2.0000	3.9033/3.9994	5.8216/5.9971	7.7304/7.9881
۱۴	*DGCR8*	1.9666/1.9999	3.8899/3.9990	5.7941/5.9971	7.6828/7.9848
۱۵	*SMIM14*	1.9598/1.9999	3.8839/3.9998	5.7988/5.9993	7.7081/7.9961
۱۶	*MRPS11*	1.9945/1.9998	3.9417/3.9984	5.8769/5.9946	7.7967/7.9817
۱۷	*CDK9*	1.9889/1.9991	3.9344/3.9982	5.8663/5.9891	7.7677/7.9596
۱۸	*DALRD3*	1.9585/1.9995	3.8711/ 3.9960	5.7672/5.9798	7.6230/7.9247
۱۹	*SPSB3*	1.9390/1.9998	3.8173/3.9979	5.6846/5.9926	7.5244/7.9645
۲۰	*ZNF419*	1.9925/1.9997	3.9284/3.9981	5.8516/5.9939	7.7540/7.9687
۲۱	*ZDHHC4*	1.9863/2.0000	3.9435/3.9970	5.8876/5.9941	7.8150/7.9746
۲۲	*B4GALT1*	1.9949/2.0000	3.9296/3.9999	5.8552/5.9991	7.7756/7.9964
۲۳	*GRWD1*	1.9855/1.9997	3.9017/3.9971	5.8109/5.9895	7.6984/7.9656
۲۴	*ACTR2*	1.9572/2.0000	3.8736/3.9998	5.7813/5.9990	7.6828/7.9954
۲۵	*S100A16*	1.9835/1.9996	3.8754/3.9990	5.7561/5.9927	7.6163/7.9745
۲۶	*SNRPG*	1.9683/1.9998	3.8946/3.9983	5.8093/5.9943	7.7089/7.9768
۲۷	*TIMM21*	1.9946/1.9996	3.9570/3.9974	5.9043/5.9916	7.8252/7.9611
۲۸	*NR1H2*	1.9769/1.9998	3.8845/3.9979	5.7820/5.9927	7.6539/7.9692
۲۹	*C1H21orf59*	1.9991/2.0000	3.9576/3.9994	5.9041/5.9954	7.8366/7.9816
۳۰	*RPS3A*	1.9668/1.9997	3.9038/3.9978	5.8295/5.9872	7.7327/7.9597

*: سلول‌های با رنگ خاکستری و صورتی به ترتیب بیشترین و کمترین مقادیر آنتروپی ژن‌ها را در رتبه مربوطه نشان می‌دهد.

جدول ۲- نتایج آنتروپی کمینه و بیشینه در مراتب ۱ الی ۴ ژن‌های مربوطه

Table 2. Results of maximum and minimum entropy orders of 1 to 4 in respected genes

آنتروپی	کمترین مقدار آنتروپی			بیشترین مقدار آنتروپی		
	نام ژن	طول ژن	مقدار	نام ژن	طول ژن	مقدار
$H(x)_I$	*SLC35A3*	۱۴۹۰۱	۱/۹۳۳۲	*YWHAH*	۱۴۴۵	۱/۹۹۹۴
$H(x)_{II}$	*SPSB3*	۵۵۷۰	۳/۸۱۷۳	*YWHAH*	۱۴۴۵	۳/۹۶۴۹
$H(x)_{III}$	*SPSB3*	۵۵۷۰	۵/۶۸۴۶	*YWHAH*	۱۴۴۵	۵/۹۰۴۵
$H(x)_{IV}$	*HPS6*	۲۶۲۲	۷/۵۰۷۸	*C1H21orf59*	۱۱۶۲۸	۷/۸۳۶۶

جدول ۳ – نتایج آنتروپی بیشینه و کمینه در مراتب ۱ تا ۴ اگزون‌ها

Table 3. Results of different entropy orders of 1 to 4 over exones

آنتروپی	کمترین مقدار آنتروپی			بیشترین مقدار آنتروپی		
	نام اگزون	طول اگزون	مقدار	نام اگزون	طول اگزون	مقدار
$H(x)_I$	Exon 1 gene *SPSB3*	۳۴	۱/۶۴۵۷	Exon 1 gene *YWHAH*	۱۴۴۵	۱/۹۹۹۴
$H(x)_{II}$	Exon 1 gene *SPSB3*	۳۴	۲/۹۲۲۰	Exon 1 gene *YWHAH*	۱۴۴۵	۳/۹۶۴۹
$H(x)_{III}$	Exon 1 gene *ACTR2*	۱۰	۲/۷۵۰۰	Exon 8 gene *TBC1D20*	۲۲۸۶	۵/۸۴۵۸
$H(x)_{IV}$	Exon 1 gene *ACTR2*	۱۰	۲/۸۰۷۴	Exon 1 gene *YWHAH*	۱۴۴۵	۷/۷۳۶۵

در جدول ۲ و ۳ به ترتیب نتایج آنتروپی کمینه و بیشینه در مراتب ۱ الی ۴ ژن‌ها و اگزون‌های مربوطه، نشان داده شده است. با بررسی آنتروپی مرتبه چهارم ژن‌ها (که نتایج آن نسبت به مراتب دیگر قابل تامل‌تر می‌باشد)، مشاهده شد که آنتروپی ژن‌های *C1H21orf59*، *TIMM21*، *CALM1* و *ZDHHC4* به‌ترتیب با مقادیر ۷/۸۳۶۶، ۷/۸۲۵۲، ۷/۸۱۶۱ و ۷/۸۱۵۰ از دیگر ژن‌ها بیشتر می‌باشد.

اگزون‌هایی که آنتروپی آن‌ها در رتبه چهارم بیشینه بود (یعنی مقدار آنتروپی نزدیک به ۸ بود) عبارت بودند از: اگزون ۱ ژن *YWHAH* ، اگزون ۱ ژن *DGCR8* و اگزون ۸ ژن *TBC1D20*. به نظر می‌رسد یکی از دلایلی که اگزون ۱ ژن *ACTR2* کمترین مقدار آنتروپی در مراتب سوم و چهارم را در میان سایر اگزون‌های مورد بررسی از خود نشان داده است، طول کوتاه این اگزون باشد، در مقابل اگزون ۱ ژن *YWHAH* به علت طول بالاتر نسبت به سایر اگزون‌ها مقدار آنتروپی بالاتری را به خود اختصاص داده است. البته این موضوع همیشه صدق نمی‌کند همانطور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود اگزون ۸ ژن *TBC1D20* که طول بیشتری نسبت به اگزون ۱ ژن *YWHAH* دارد، فقط در مرتبه سوم آنتروپی مقادیر بالاتری را به خود اختصاص داده است. اکثر ژن‌های مورد بررسی دارای اگزون‌هایی بودند که مقادیر بالا و پایین آنتروپی را در بر داشتند. ولی در این میان، همه اگزون‌های ژن‌های *DES* و*FAM192A* دارای آنتروپی پایین تری از آنتروپی سایر اگزون‌های ژن‌های مورد بررسی بودند. آنتروپی مراتب ۱ الی ۴ تمام ژن‌ها ، اگزون‌ها و توالی متناظر تصادفی آن‌ها در جدول ۳ فایل ضمیمه قابل دسترس می‌باشد.

در مجموع نتایج نشان داد که مقادیر آنتروپی مراتب ۱ و ۲ بسیاری از قطعه‌های DNA تفاوت چندانی با هم نداشتند و نزدیک بودن آنتروپی‌ها به مقادیر حداکثر (به ترتیب ۲ و ۴) نشان می‌دهد که قطعات DNA به احتمال زیاد، دارای اطلاعات زیادی هستند. همچنین الگوهای مشابه آنتروپی‌ها، نشان می‌دهد که قطعه‌های DNA دارای اطلاعات ناشناخته زیادی هستند که شاید با عملکردهای مستقل آن‌ها در ارتباط باشند. در آنتروپی‌های مراتب ۳ و ۴ مشاهده شد که مقدار آنتروپی محاسبه شده از حداکثر آنتروپی ژن‌ها (به ترتیب ۶ و ۸) نسبت به مراتب ۱ و ۲ بیشتر فاصله می‌گیرد و کمی از حداکثر دور می گردند. در واقع هرچه آنتروپی یک قطعه DNAبالاتر باشد، احتمال آنکه در آن بخش، یک الگوی خاص از DNA مثل نشانگر وجود داشته باشد نیز بیشتر است که پیشنهاد می‌گردد برای بررسی تنوع این قطعات در ژنوم برای آنها آغازگر طراحی و مورد بررسی قرار گیرند . با توجه به اینکه در مراتب بالاتر آنتروپی، ژن‌های با آنتروپی نزدیک به هم جدا از محتوا، از لحاظ توالی‌های داخل ژن نیر ممکن است نسبت به هم شبیه باشند لذا نتایج آنتروپی مراتب بالاتر برای ما مهم‌تر بوده و به واقعیت نزدیک‌تر می‌باشد. چون با توجه به آنتروپی مراتب ۳ و ۴ می‌توان ادعا نمود که ژن‌هایی که در کنار هم در یک خوشه قرار گرفتند جدا از محتوای اطلاعاتی نزدیک به هم، از نظر تشابه قطعات ژن هم وجوه مشترک زیادی داشتند چون در محاسبه آنتروپی رتبه‌های ۳ و ۴ که مبتنی بر فراوانی جملات ۳ و ۴ حرفی (نوکلئوتیدی) می‌باشد با اطمینان ژن‌های با آنتروپی نزدیک به هم که فاصله ژنی آن‌ها از هم نیز بسیار کم بوده و در یک خوشه قرار گرفتند شباهت ساختاری زیادی نسبت به همدیگر داشته و فراوانی این جملات مشترک و یکسان در آن‌ها به مراتب زیادتر از ژن‌های قرار گرفته در خوشه‌های دیگر است. طی تحقیقی نشان داده شد که آنتروپی توالی‌های DNA نزدیک به بیشینه است (۱۸). همچنین طی مطالعه‌ای بر پایه‌های هندسی آنتروپی، الگوریتم جدیدی برای تعیین ساختمان دوم پروتئین ارائه شد و نشان داده شد که قطعات دارای آنتروپی پایین‌تر، نظم ساختاری بیشتری دارند (۱۷). با مقایسه پراکندگی مقدار آنتروپی ژن‌ها نتیجه می‌گیریم که هرچقدر آنتروپی توالی کل ژن به مقدار بیشینه خود نزدیک شود، آن ژن از اهمیت بیشتری برخوردار است. با توجه به اینکه اگزون‌های با مقادیر آنتروپی بالا به‌خصوص در رتبه ۴ و نزدیک به مقدار حداکثر آنتروپی، قطعاتی هستند که دارای عدم قطعیت بالا می‌باشند، لذا اگزون‌های آن نیز از آنتروپی بیشتری برخوردارند و دلیل آن این است که اگزون‌ها قسمت معنی‌دار ژن بوده و نقش اصلی را بر عهده دارند و در بردارنده اطلاعات غالب توالی هستند و انتظار می‌رود که این نواحی تغییرات بیشتری را در ژن متحمل گردند که می‌توان این قطعات را جهت مقایسات ژنوتایپی ژن‌های افراد یک جمعیت با استفاده از نشانگرهای مولکولی پیشنهاد نمود. هر چند تنوع ژنتیکی این قطعات در یک جمعیت باید در واقعیت مورد بررسی قرار گیرد که در صورت تایید این فرض می‌توان قطعات زیادی از ژن‌های بی‌شماری که از لحاظ اصلاح دام جزو ژن‌های تاثیرگذار در بروز صفات اقتصادی می‌باشند را با استفاده از تئوری اطلاعات مشخص و برای بررسی ارتباط ژنوتایپی آنها با صفات تولیدی در گونه‌های مختلف موجودات معرفی نمود. با توجه به نتایج بالا پیش‌بینی می‌گردد اگزون‌هایی که در رتبه ۴ و نزدیک به حداکثر مقدار آنتروپی می‌باشند مناسب جهت بررسی ژنوتایپی با استفاده از نشانگرهای مولکولی باشند.

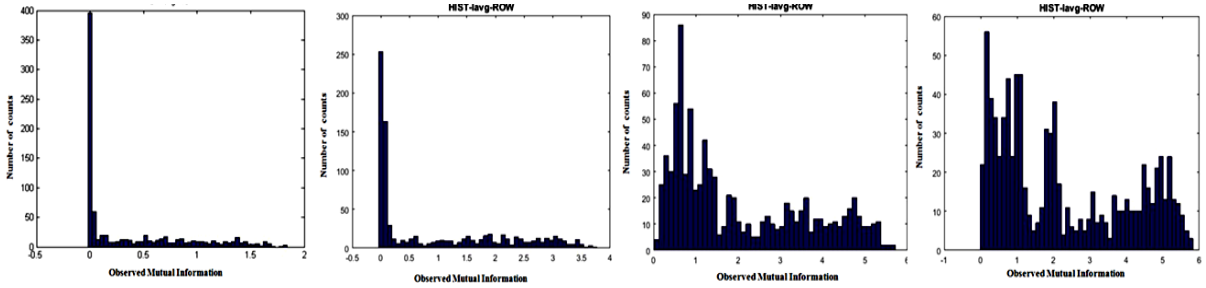
نتایج حاصل از محاسبه اطلاعات متقابل ژن‌ها و اگزون‌ها

پس از محاسبه آنتروپی مراتب ۱ الی ۴ در ژن‌ها و اگزون‌ها، مقادیر اطلاعات متقابل برای هر مرتبه از آنتروپی به طور جداگانه محاسبه شد. این روش به ژن‌ها و اگزون‌ها این اجازه را می‌دهد که با طول حقیقی و متفاوت و محتوای واقعی خود نسبت به یکدیگر مورد ارزیابی قرار گیرند. نتایج این بخش در جدول ۴ ارائه شده است. اطلاعات متقابل دسته ژنی و اگزون‌های آن، به طور مجزا و با آنتروپی‌های مراتب ۱ الی ۴ محاسبه شد. در این روش یک ماتریس نامتقارن به اندازه تعداد ژن‌ها و یا اگزون‌های مورد بررسی در هر دسته ایجاد می‌گردد که بر این اساس ژن‌ها و اگزون‌هایی که بیشترین و کمترین اطلاعات متقابل را دارند مشخص شد.

جدول ۴ – نتایج اطلاعات متقابل ژن‌ها و اگزون‌های بر اساس آنتروپی مراتب ۱ الی ۴

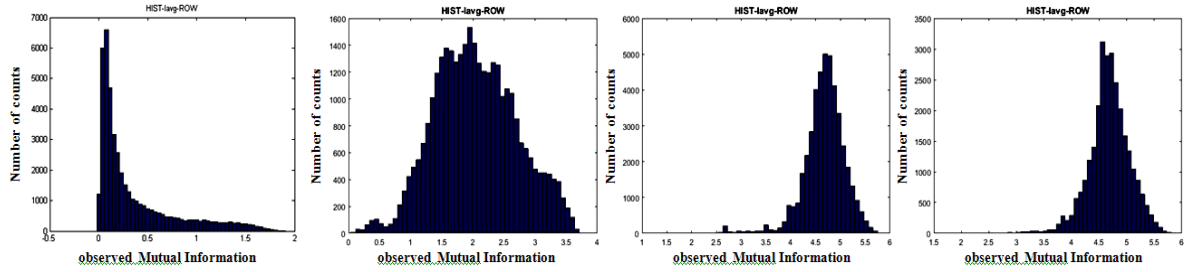
Table 4. The results of mutual information of genes and exons based on entropy orders of 1 to 4

	اطلاعات متقابل	نام ژن		مقدار	نام اگزون		مقدار
$H(x)_I$	کمترین اطلاعات متقابل	SMIM14	*YWHAH*	۰/۰۲۷۵۵۷	Exon 4 gene *DGCR8*	Exon 5 gene *EIF3L*	۰/۰۸۰۹۴۶
	بیشترین اطلاعات متقابل	YWHAH	*NSUN3*	۱/۸۲۱۷	Exon 2 gene *CALM1*	Exon 1gene *HPS6*	۱/۸۸۵۲
$H(x)_{II}$	کمترین اطلاعات متقابل	SMIM14	*C1H21orf59*	۰/۰۰۷۳۳۳۸	Exon 5 gene *ZNF419*	Exon 1 gene *YWHAH*	۰/۱۱۲۳۳
	بیشترین اطلاعات متقابل	YWHAH	*NSUN3*	۳/۷۳۳۴	Exon 3 gene *CNOT8*	Exon 1 gene *ACTR2*	۳/۸۸۹۳
$H(x)_{III}$	کمترین اطلاعات متقابل	SMIM14	*B4GALT1*	۰/۰۷۲۲۰۹	Exon 1 gene *HPS6*	Exon 8 gene *TBC1D20*	۱/۳۹
	بیشترین اطلاعات متقابل	YWHAH	*NSUN3*	۵/۶۵۹۸	Exon 1 gene *YWHAG*	Exon 1 gene *ACTR2*	۵/۸۸۸۹
$H(x)_{IV}$	کمترین اطلاعات متقابل	SMIM14	*ACTR2*	۰/۰۸۵۸	Exon 1 gene *HPS6*	Exon 1 gene *ACTR2*	۰/۸۷۵۶
	بیشترین اطلاعات متقابل	YWHAH	*NSUN3*	۷/۶۸۶۲	Exon 1 gene *YWHAG*	Exon 3 gene *ACTR2*	۷/۶۴۵۲



شکل ۲– هیستوگرام فراوانی مقادیر اطلاعات متقابل ژن ها بر اساس آنتروپی مرتبه ۱ (چپ) تا مرتبه ۴ (راست)

Figure 2. Histogram of MI of genes due to first order entropy (left) and it goes to right which is due to forth order entropy



شکل ۳– هیستوگرام فراوانی مقادیر اطلاعات متقابل اگزون‌ها بر اساس آنتروپی مرتبه ۱ (چپ) تا مرتبه ۴ (راست)

Figure 3. Histogram of MI of exones due to first order entropy (left) and it goes to right which is due to forth order entropy

نتایج اطلاعات متقابل ژن‌ها و اگزون‌ها در جدول ۴ نشان داده شده است. در شکل ۲ و ۳ محورx مقادیر اطلاعات متقابل و محور y تعداد مقایسات را نشان می‌دهد. در این تحقیق۳۰ ژن و ۲۱۱ اگزون بررسی شد بنابراین ماتریسی به ابعاد ۳۰×۳۰ برای ژن‌ها (شکل ۲) و ۲۱۱×۲۱۱ برای اگزون‌ها (شکل ۳) ایجاد شد. برای روشن شدن موضوع، به طور مثال در هیستوگرام سمت راست، شکل ۲ اولین میله تعداد مقایساتی که در آن مقادیر اطلاعات متقابل نزدیک به صفر بودند (حدود ۲۳ مقایسه) را نشان می‌دهد.

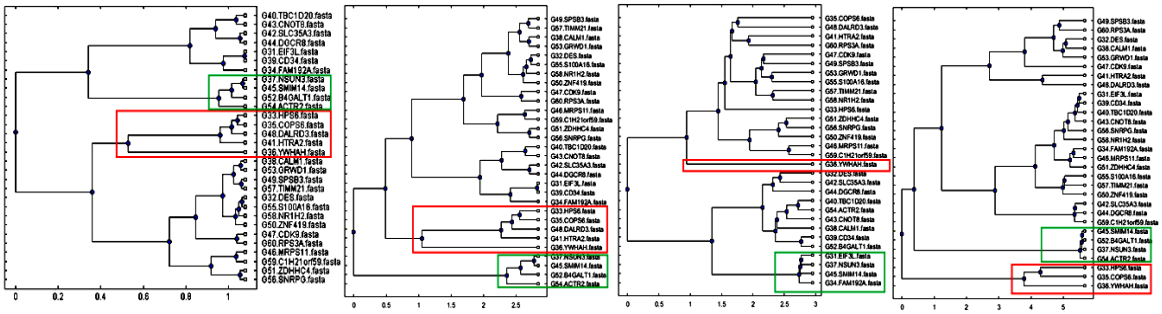
به‌طور کلی در مقایسه دو ژن با همدیگر هرچه اطلاعات متقابل آنها کمتر و نزدیک به صفر باشند یعنی دو ژن مستقل از همدیگر و هر چقدر به مقادیر حداکثر خود (مراتب مختلف) نزدیک‌تر باشند یعنی دو ژن شبیه‌تر می‌باشند.

تحقیقات بسیاری با بررسی اطلاعات متقابل ژن‌ها انجام پذیرفته است. بایندوالد و شارپیو (۱) از اطلاعات متقابل وضعیت‌های یک توالی همردیف، به عنوان یک ویژگی برای پیش بینی ساختمان دوم RNA استفاده کردند. توموویچ و اکلی (۴۷) اطلاعات متقابل را برای آنالیز نقاط اتصال فاکتور رونویسی[1] برای شناسایی موقعیت‌هایی با همبستگی بالا به کار بردند. باسلج و همکاران (۵) شبکه‌هایی از اطلاعات متقابل بالا در ساختار جایگاه‌های کاتالیتیک را نشان دادند که برای پیش‌بینی این جایگاه‌ها از اطلاعات متقابل استفاده گردید. همچنین برونل و همکاران (۳) یک آزمون "معنی‌دار بودن آماری اطلاعات متقابل " برای مطالعات همبستگی ژنتیکی ابداع کردند. در واقع منظور از اطلاعات متقابل، میزان اشتراک اطلاعات دو منبع است. برای مثال اگر اطلاعات متقابل یک قطعه DNA با خودش را در نظر بگیریم معلوم است که اطلاعات یک قطعه DNA کاملا با اطلاعات خودش برابر است. در این صورت اطلاعات متقابل یک قطعه DNAبا خودش حداکثر مقدار اطلاعات متقابل را دارد. از لحاظ عددی مقدار اطلاعات یک قطعه DNA در مرتبه ۱ آنتروپی بین صفر و ۲ است. مقدار اطلاعات متقابل برابر صفر را می‌توان از لحاظ ژنتیک جمعیت و کمی به مفهوم نبود تعادل پیوستگی تلقی کرد. بنابراین به‌عنوان یک ایده جدید، محاسبه اطلاعات متقابل می‌تواند ارزش بسیار بالایی در اصلاح نژاد داشته باشد. همچنین اساس تشخیص جایگاه‌های صفات کمی بر پایه عدم تعادل پیوستگی استوار است. بنابراین هر چقدر اطلاعات متقابل بین نوکلئوتیدها بالاتر باشد، میزان عدم تعادل پیوستگی نیز بالاتر خواهد بود. اگر آنتروپی دو قطعه DNA مشابه به هم باشند، آنگاه، اطلاعات متقابل آنها حداکثر خواهد شد و انتظار می‌رود آن دسته از قطعات DNA که چنین خاصیتی را داشته باشند یا اطلاعات متقابل آنها به حداکثر نزدیک باشد (خصوصا در رتبه‌های بالا آنتروپی)، احتمالا یک نقش زیستی مشابه دارند. همانطور که بیان شد، در اصلاح نژاد، شناسایی نواحی نشانگر بسیار مهم می‌باشد. اگر این نواحی اثرات عمده روی صفات تولیدی داشته باشند، پس از بررسی ارتباط ژنوتیپ‌های آن ژن با صفت تولیدی می‌توان نتایج مهمی را در این خصوص استخراج نمود. تئوری اطلاعات و معیارهای اندازه‌گیری مبتنی بر آن امکان دسته‌بندی ژن‌ها را داده که این دسته‌بندی در یک موجود در تحلیل مسیرهای متابولیکی مشترک ژن‌ها و در گونه‌های مختلف، در تحلیل مسیر تکاملی ژن‌ها روشن‌کننده راه است. بر اساس نتایج کسب شده از اجرای روند پژوهش، تئوری اطلاعات توانست در خصوص غربال ژن هایی که محتوای اطلاعات مشترک بالایی دارند کمک نماید. در این خصوص ژن‌ها و یا قطعاتی از ژن که از آنتروپی بالایی برخوردار بودند توانستند در شناسایی و مکان‌یابی نواحی که نوکلئوتیدهای آن از قطعیت کمتری برخوردار بوده و لذا تنوع بالایی را در افراد نشان می‌دهند کمک نمایند.

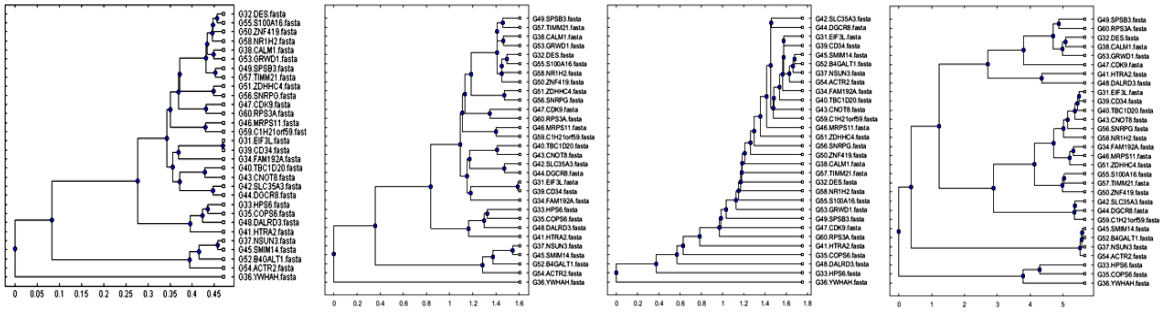
خوشه‌بندی ژن‌ها با استفاده از اطلاعات متقابل

پس از محاسبه اطلاعات متقابل، ژن‌ها در هر مرتبه از آنتروپی و بدون اعمال همترازی با ۷ روش ذکر شده، خوشه‌بندی و مورد بررسی قرار گرفتند. کلیه نتایج مربوط به خوشه‌بندی ژن‌ها و اگزون‌ها با ۷ الگوریتم یاد شده در بخش ضمیمه آورده شده است. شکل ۴ و ۵ نتایج خوشه‌بندی مراتب ۱ الی ۴ را با روش‌های UPGMA و Single را نشان می‌دهد.

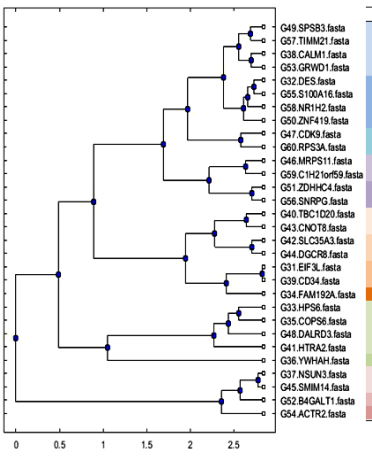
1- Transcription Factor Binding



شکل ۴- نتایج خوشه‌بندی اطلاعات متقابل (MI) ژن‌ها از مرتبه ۱ (چپ) به مرتبه ۴ (راست) با استفاده از روش UPGMA
Figure 4. The results of MI clustering of genes from first order (left) to fourth order (right) using UPGMA method



شکل ۵- نتایج خوشه‌بندی اطلاعات متقابل (MI) ژن‌ها از مرتبه ۱ (چپ) به مرتبه ۴ (راست) با استفاده از روش Single
Figure 5. The results of MI clustering of genes from first order (left) to fourth order (right) using the single method



MI – H_2		
GENE	Length	Exon count
SPSB3	5570	7
TIMM21	5716	6
CALM1	6340	6
GRWD1	6066	7
DES	7076	9
S100A16	6912	3
NR1H2	6648	10
ZNF419	7336	5
CDK9	4402	7
RPS3A	4687	6
MRPS11	10887	6
C1H21orf59	11628	7
ZDHHC4	8622	8
SNRPG	9003	4
TBC1D20	18982	8
CNOT8	17614	7
SLC35A3	14901	7
DGCR8	14332	13
EIF3L	22981	13
CD34	22955	8
FAM192A	26969	19
HPS6	2622	1
COPS6	2766	10
DALRD3	2957	12
HTRA2	3310	8
YWHAH	1445	1
NSUN3	60167	6
SMIM14	58601	5
B4GALT1	53285	6
ACTR2	47929	9

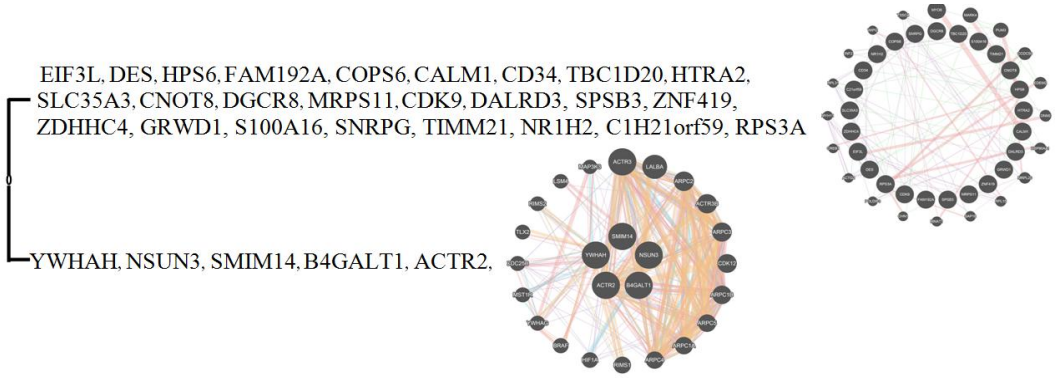
شکل۶- مقایسه طول ژن‌ها بر اساس خوشه بندی اطلاعات متقابل آنتروپی مرتبه ۲
Figure 6. Comparison of genes length based on MI clustering of second order entropy

با تغییر مرتبه آنتروپی از ۱ به ۴ توپولوژی خوشه‌ها دچار تغییراتی شد. با توجه به شکل شماره ۴ (کادر قرمز) مشاهده شد که ژن *YWHAH* که در آنتروپی مراتب ۱ تا ۳ در یک خوشه کنار ژن‌های *HPS6*، *COPS6*، *DALRD3* و *HTRA2* قرار گرفته‌بود در مرتبه ۴ آنتروپی در یک خوشه دیگر تنها در کنار ژن‌های *COPS6* و *HPS6* قرار گرفت. همچنین ژن های *SMIM14* و *NSUN3* (کادر سبز) در همه مراتب آنتروپی در کنار هم و در یک خوشه قرار داشتند که نشان داد که اطلاعات متقابل مشترک زیادی بین این ژن‌ها وجود دارد.

نکته قابل توجه این که ژن‌های یک خوشه از نظر طول و تعداد اگزون نزدیک به هم بودند (شکل ۴). به طور مثال اگر به شکل ۵ که خوشه‌بندی ژن‌ها بر اساس اطلاعات متقابل مرتبه ۲ آنتروپی را نشان می‌دهد توجه شود کاملا مشخص است که ژن‌های هر خوشه از نظر طول بسیار نزدیک به هم می باشند. در واقع می‌توان نتیجه گرفت که اطلاعات متقابل ژن‌ها به نوعی با طول ژن ارتباط مستقیم دارد. همچنین انتظار می‌رود که ژن‌هایی که در یک خوشه قرار گرفتند (به‌ویژه در مرتبه ۴ آنتروپی) که محاسبات بر اساس فراوانی جملات چهار حرفی صورت پذیرفت علاوه بر محتوای ژنی نزدیک به هم دارای قطعات مشابه بیشتری نسبت به ژن‌های سایر خوشه‌ها بوده و اطلاعات متقابل این ژن‌ها نسبت به ژن‌های خوشه‌های دیگر بیشتر می‌باشد.

یکی از مهم‌ترین پیش‌پردازش‌ها به‌منظور بهبود عملکرد سیستم طبقه‌بندی، کاهش بعد فضای ویژگی می‌باشد. کاهش بعد فضای ویژگی باعث کاهش پیچیدگی فرآیند طبقه‌بندی و در نتیجه کاهش وقوع خطا می‌شود. و یکی از روش‌هایی که برای کاهش بعد فضای ویژگی معرفی شده است، استخراج ویژگی نامید دارد. تئوری اطلاعات و معیارهای اندازه‌گیری مبتنی بر آن از جمله اطلاعات متقابل ویژگی‌های مختلفی از ارتباط ژن‌ها در اختیار ما می‌گذارد که دارای حداکثر اطلاعات در مورد کلاس خروجی می‌باشد که باعث افزایش دقت طبقه‌بندی می‌گردد.

در این بخش از پژوهش بر اساس اطلاعات مفیدی که از خوشه‌بندی ژن‌ها به دست آمد، از طبقه‌بند آدابوست استفاده شد. تجمیع و ترکیب نتایج با استفاده از طبقه بند آدابوست، ژن‌های مورد بررسی را در دو خوشه خوشه بندی نمود که خوشه اول شامل ۲۵ ژن و خوشه دوم شامل ۵ ژن بود (شکل ۷).



شکل ۷- نتایج حاصل از ترکیب طبقه بند آدابوست روی ژن‌های مورد بررسی

Figure 7. The result of combining different clustering results AdaBoost algorithm on studied gene

بررسی ارتباط ژن‌ها و عملکردشان بر اساس نتایج حاصل از آدابوست

با توجه به ارتولوگ بودن ژن‌های مورد بررسی با انسان، ارتباط بین آن‌ها و عملکردشان در انسان با مراجعه به تارگاه *GeneMANIA* مورد بررسی و پیش بینی قرار گرفت. در بررسی ۲۵ ژن خوشه اول در تارگاه *GeneMANIA* شاهد ارتباط این ژن‌ها با ۴۵ ژن دیگر بودیم که در مجموع ۸۲/۲۲٪ هم بیانی[1] نشان دادند. هیچ‌کدام از ۴۵ ژن مرتبط با ژن‌های خوشه اول، ژن‌هایی نبودند که در خوشه دوم حضور داشتند. در بررسی ۵ ژن خوشه دوم در *GeneMANIA* شاهد ارتباط این ژن ها با ۲۵ ژن دیگر بودیم که در مجموع ۱۳/۵٪ هم بیانی نشان دادند و هیچ کدام از ۲۵ ژن مرتبط با ژن‌های خوشه دوم، ژن‌هایی نبودند که در خوشه اول حضور داشتند (شکل ۸). در جدول ۵ عملکرد ژن‌های خوشه‌های اول و دوم با سایر ژن‌های مرتبط با آن‌ها نشان داده شده است.

همانطور که مشاهده شد ژن‌های خوشه‌های اول و دوم هر کدام وظایف متفاوت از هم داشته لذا مسیرهای متابولیکی متفاوتی داشتند. وظایف ژن‌های خوشه اول بیشتر بر روی ریبوزوم و تنظیمات آن در سلول و وظایف ژن‌های خوشه دوم بیشتر بر روی فایگوسیتوزیس و سایتواسکلتون بود. همچنین

1- Co-expression

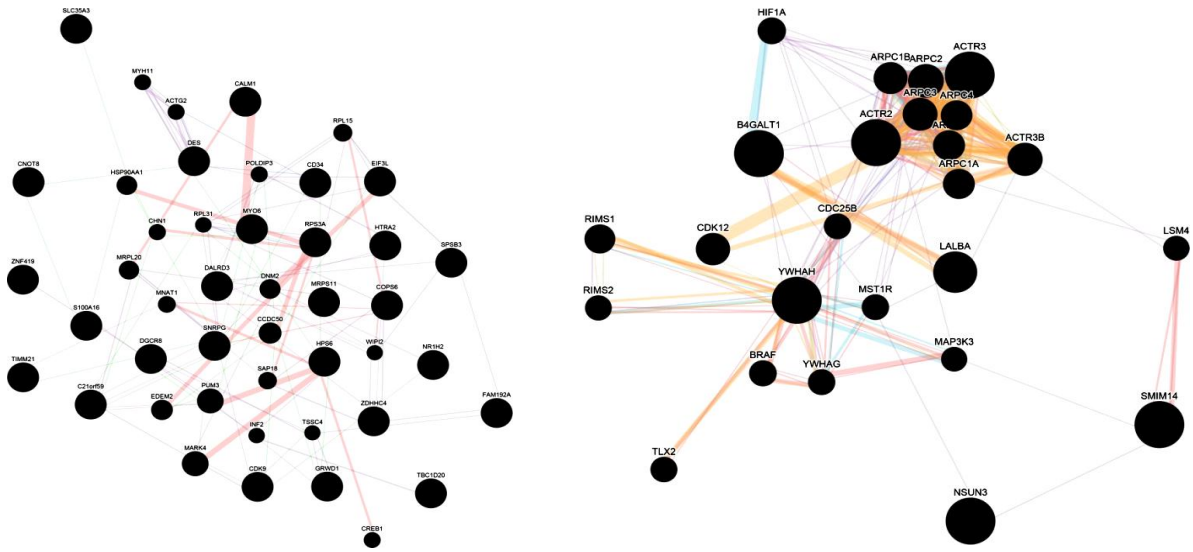
هـیچ ژن مشـترک و مـرتبط یکسـانی در دو خـانواده ژنـی مشاهده نشد که این خود به نوعی تاییدی برکلاسـه‌بنـدی بـا روش ارائه شده بود.

نتایج حاصل از محاسبه اطلاعات متقابل روی قطعات DNA تا حدی نشان داد که ساخت و ترکیب DNA ژن‌ها، اگر به فضای دیگری نگاشت شود (مثل فضای آنتروپی)، می‌تواند مشابهت‌های عملکردی آن‌ها را آشکار کند. آن دسته از توالی‌های DNA که ساختار یکسانی دارند، احتمالاً یک نوع پروتئین را کد می‌کنند و درنتیجه نقش عملکردی زیستی یکسانی خواهند داشت بنابراین امکان استخراج شبکه متابولیتی بین توالی‌های زیستی یک سازواره به طور نسبی وجود دارد. البته این در صورتی درست است که هیچ‌گونه اطلاعات زیستی دیگری موجود نباشد. پژوهش‌های مختلفی در این خصوص انجام گرفته است. در پژوهشی، نظریه درختچه حیات برای تحلیل مسیرهای متابولیتی به کار گرفته شد که از اولین پژوهش‌هایی محسوب می‌شود که در آن ترکیب داده‌های سطح DNA و مسیرهای متابولیکی با استفاده از درختچه حیات انجام شد (۱۵). همچنین پژوهش‌هایی جهت استفاده هر چه بیشتر داده‌های متابولیکی برای درک بهتر ارتباط تکاملی گونه‌های مختلف (۷)، با توجه به انباشت داده‌های متابولیکی و با استفاده از نظریه گراف انجام شده است که نشان‌دهنده همخوانی درختچه فیلوژنی ایجاد شده با نتایج آزمایشگاهی بود (۷،۱۹).

جدول ۵- وظایف و عملکرد ژن‌های خوشه اول و دوم

Table 5. Functions of the first and second gene clusters

عملکرد ژن‌های خوشه اول	عملکرد ژن‌های خوشه دوم
viral transcriptionER to Golgi vesicle-mediated transport	Fc-gamma receptor signaling pathway involved in phagocytosis
ribosome	immune response-regulating cell surface receptor signaling pathway involved in phagocytosis
regulation of nitric-oxide synthase activity	immune response-regulating cell surface receptor signaling pathway involved in phagocytosis
regulation of monooxygenase activity	Fc-gamma receptor signaling pathway
ribosomal subunit	Fc receptor mediated stimulatory signaling pathway
cytosolic part	Phagocytosis
translational initiation	actin cytoskeleton
regulation of oxidoreductase activity	immune response-activating cell surface receptor signaling pathway
cellular response to heat	Fc receptor signaling pathway
protein targeting	immune response-regulating cell surface receptor signaling pathway
	structural constituent of cytoskeleton



شکل ۸- ارتباط ژن‌های خوشه اول شامل ۲۵ ژن (چپ) و خوشه دوم شامل ۵ ژن (راست) با سایر ژن‌های عملکردی مشابه

Figure 8. The relationship between the first cluster genes consists of 25 genes (left) and the second cluster genes including 5 genes (right) with other similar functional genes

در پژوهش حاضر سعی شد که نتایج حاصل از محاسبه اطلاعات متقابل روی قطعات DNA با درختچه حاصل روی توالی قطعات DNA مقایسه شود.

پنر و همکاران (۳۴) روشی ساده و قوی برای محاسبه اطلاعات متقابل از همتزازی های دوگانه کلی[1] و اندازه‌گیری تشابه آنها و بازساخت درخت فیلوژنتیک ارائه دادند. یو و همکاران (۵۵) از اطلاعات متقابل به عنوان معیاری جهت اندازه‌گیری فاصله برای فیلوژنی تعدادی از مهره داران با استفاده از ژنوم میتوکندری آنها استفاده نمودند که نتایج حاصل تقریبا به توپولوژی موجود ارائه شده فیلوژنی مهره داران نزدیک بود. باید خاطر نشان کرد که در پژوهش صورت گرفته برخلاف تعدادی از مطالعات انجام شده که داده‌های ورودی آنها متعلق به گونه های مختلف بودند از داده ژنی یک گونه (گاو شیری) برای ایجاد درختچه تکاملی استفاده شد. بنابراین مفروضات این روش با ورودی‌های این مطالعه می‌تواند در تضاد باشد چرا که توالی‌های DNA در این پژوهش مربوط به یک ارگانیسم بود. با این وجود مشاهده شد که بنیاد نظری ایجادکننده درختچه تکاملی را می‌توان برای ارتباط متابولیکی نیز به کار برد. در واقع ماتریس فاصله ایجاد شده در روش‌های یاد شده می‌تواند ورودی الگوریتم‌های نظارت نشده مثل خوشه‌بندی سلسله مراتبی باشد. در آن صورت قطعات DNA که خود را به صورت خوشه نشان می‌دهند به راحتی قابل تشخیص خواهند بود. بر این اساس احتمالاً قطعاتی که در داخل یک خوشه قرار می‌گیرند در یک مسیر زیستی مشترک فعالیت دارند. در روش ارائه شده از خوشه‌بندی به یک گروه‌بندی زیستی از ژن‌ها دست یافته شد. با توجه به استخراج ویژگی‌های حاصل از نتایج خوشه‌بندی، از این روش نو و بدیع می‌توان در خوشه‌بندی ژن‌های دیگر استفاده نمود. نتایج نهایی خوشه‌بندی و بررسی عملکرد ژن‌های هر خوشه، روش ارائه شده در این پژوهش را برای خوشه‌بندی ژن‌ها مورد تایید قرار داد.

الگوریتم یاد شده توانست در گستره‌ای از خوشه‌بندی ژن‌ها و حتی ژنوم‌ها بر اساس آنتروپی توالی DNA آن‌ها به کار رود. این الگوریتم از یک روش بی‌نیاز از همترازی با استفاده از اطلاعات متقابل، جهت خوشه‌بندی ژن‌ها استفاده کرد. تازگی این الگوریتم این است که با استفاده از نظریه اطلاعات، آنتروپی و اطلاعات متقابل توالی‌های با طول متفاوت را می‌تواند پشتیبانی و خوشه‌بندی کند. الگوریتم یاد شده تعدد نتایج خوشه‌بندی حاصل از روش‌های یاد شده را با استفاده از سامانه‌های طبقه‌بندی‌کننده چندگانه[2] و یا سامانه‌های شورایی حل می‌کند که این پژوهش از یکی از مطرح ترین این روش‌ها بنام آدابوست بهره برد (۱۳،۱۴).

اعتقاد بر این است که روش ارائه شده در این مقاله می‌تواند جهت تخصیص و پیشی‌بینی فعالیت زیستی آن دسته از ژن‌هایی که حاشیه‌نویسی ژنومی قوی ندارند، کمک کند، چرا که فقط متکی به توالی DNA ژن‌ها بوده و اندازه و طول ژن‌ها اثری در ماهیت الگوریتم ارایه شده ندارد. بنابراین، خوشه‌بندی توام ژن‌هایی که حاشیه‌نویسی ژنومی قوی دارند با آن‌هایی که ندارند، می‌تواند ارزش افزوده تحلیل و زیستی به گروه دوم ژن‌ها (بدون حاشیه‌نویسی ژنومی) بدهد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مراتب تقدیر و تشکر صمیمانه خود را از مهندس کامیار شیوعی، دکتر سعید انصاری مهیاری و همچنین دست اندرکاران مرکز ابررایانش ملی شیخ بهایی به جهت استفاده از امکانات پردازشی آن مرکز اعلام می‌نمایند. این مرکز تحت حمایت معاونت علمی و فنآوری ریاست جمهوری و دانشگاه صنعتی اصفهان می‌باشد.

منابع

1. Bindewald, E. and B.A. Shapiro. 2006. RNA secondary structure prediction from sequence alignments using a network of k-nearest neighbor classifiers, RNA (2006), 12: 342-352. Published by Cold Spring Harbor Laboratory Press. Copyright 2006 RNA Society.
2. Blaisdell, B.E. 1986. Ameasure of the similarity of sets of sequences not requiring sequence alignment. Proceeding of National Academy of Sciences, 83(14): 5155-5159.
3. Brunell, H., J.J. Gallardo-Chacon, A. Buil, M. Montserrat Vallverdu, J.M. Soria, P. Caminal and A. Perera. 2010. MISS: a non-linear methodology based on mutual information for genetic association studies in both population and sib-pairs analysis .BIOINFORMATICS 26(15): 1811-1818, DOI:10.1093/bioinformatics/btq273.
4. Buitenhuis, A.J., U.K. Sundekilde, N. Poulsen, H.C. Bertram, L.B. Larsen and P. Sørensen. 2013. Estimation of genetic parameters and detection of qtl for metabolites in Danish Holstein milk. Journal of Dairy Science, 14(79): 1-10.
5. Buslje, C.M., E. Teppa, T.D. Dome´nico, J.M. Delfino and M. Nielsen. 2010. Networks of high mutual information define the structural proximity of catalytic sites: Implications for Catalytic Residue Identification. PLoS Computational Biology, Volume 6(11).
6. Changchuan, Y., Y. Chen and S.T. Yau. 2014. A measure of DNA sequence similarity by Fourier Transform with applications on hierarchical clustering. Journal of Theoretical Biology, 359: 18-28.
7. Clemente, J.C. K. Satou and G. Valiente. 2007. Phylogenetic reconstruction from non-genomic data. Bioinformatics, 23: 110-115.
8. Comin, M. and D. Verzotto. 2012. Alignment-free phylogeny of whole genomes using underlying subwords. Algorithms for Molecular Biology, 7(1).
9. Dawy, Z., J. Hagenauer, P. Hanus and J.C. Mueller. 2005. Mutual Information Based Distance Measures for Classification and Content Recognition with Applications to Genetics. 0-7803-8938-7/05/$20.00 (C) 2005 IEEE.
10. Edgar, R.C. and S. Batzoglou. 2006. Multiple sequence alignment. Curr. Opin. Struct. Biol, 16(3): 368-373.

11. Edwards, S.V., B. Fertil, A. Giron and P.J. Deschavanne. 2002. A genomic schism in birds revealed by phylogenetic analysis of DNA strings. Systematic. Biology, 51: 599-613.
12. Erill, I. 2012. Information Theory and biological sequences: Insights from an evolutionary prespective. 2012 Nova Science Publishers, Inc.
13. Freund, Y. and R. Schapire. 1996. A decision-theoretic generalization of on-line learning and an application to boosting. Journal of Computer and System Sciences, 55: 119. CiteSeerX 10.1.1.32.8918, DOI: 10.1006/jcss.1997.1504.
14. Freund, Y. and R. Schapire. 1996. Experiments with a new boosting algoritm. Paper read at Proceeding of the Thirteenth Internatioanal Conference on Machine Learning.
15. Forst, C.V. and K. Schulten. 2001. Phylogenetic analysis of metabolic pathways. Journal Molecular Evolution, 52: 471-489.
16. Gray, R.M. 2013. Entropy and Information Theory. First Edition. Springer-Verlag New York publisher.
17. Habibi, M., H.Pezeshk, C. Eslahchi and M. Sadegi. 2007. Allocation of protein secondary structure using entropy. Iran's fifth largest biotechnology conference. Tehran, Iran. pp: 33-39 (In Persian).
18. Herzel, H., W. Ebelling and A.O. Schmitt. 1994. Entropies of biosequences: The role of repeats. Physical Review Letters, 50: 5061-5071.
19. Heymans, M. and A.K. Singh. 2003. Deriving phylogenetic trees from the similarity analysis of metabolic pathways. Bioinformatics, 19(1): 138-146.
20. Jiang, S., C. Tang, L. Zhang and A. Zhang. 2014. A Maximum entropy approach to classifying gene array data sets. Workshop on Data Mining for Genomics, First SIAM International Conference on Data Mining.
21. Jun, S.R., G.E. Sims, G.A. Wu and S.H. Kim. 2010. Whole-proteome phylogeny of prokaryotes by feature frequency profiles: analignment-free method with optimal featurere solution. Proceedings of the National Academy of Sciences, 107(1): 133-138.
22. Katoh, K., K. Misawa, K.I. Kuma and T. Miyata. 2002. Mafft: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. Nucleic Acids Research, 30(14): 3059-3066.
23. Kemena, C. and C. Notredame. 2009. up coming challenges for multiple sequence alignment methods in the high-throughput era. Bioinformatics, 25(19): 2455-2465.
24. Khatib, H., RL. Monson, V. Schutzkus, D.M. Kohl, G.J.M. Rosa and J.J.Rutledge. 2008. Mutations in the STAT5A gene are associated with embryonic survival and milk composition in cattle. Journal of Dairy Science, 91: 784-793.
25. Kim, J., S. Kim, K. Lee and Y. Kwon. 2009. Entropy analysis in yeast DNA. Chaos, Solitons and Fractals 39: 1565-1571.
26. Larkin, M.A., G. Blackshields, N. Brown, R. Chenna, P.A. McGettigan, H. McWilliam, F. Valentin, I.M. Wallace, A. Wilm and R. Lopez. 2007. Clustal w and clustal x version 2.0. Bioinformatics, 23(21): 2947-2948.
27. Lemay, D.G., D.J. Lynn, W.F. Martin, M.C. Neville, T.M. Casey, G. Rincon, E.V. Kriventseva, W.C. Barris, A.S. Hinrichs, A.J. Molenaar, K.S. Pollard, N.J. Maqbool, K. Singh, R. Murney, E.M. Zdobnov, R.L. Tellam, J.F. Medrano, J.B. German and M. Rijnkels. 2009. The bovine lactation genome: insights into the evolution of mammalian milk. Genome Biology, 10:R43 (DOI: 10.1186/gb-2009-10-4-r43).
28. Liou, C.Y., S.H. Tseng, W.C. Cheng and H.Y. Tsai. 2013. Structural complexity of DNA sequence. Computational and mathematical methods in medicine, Volume 2013, Article ID 628036, 11 pp.
29. Liu, B. 2007. Uncertainty Theory, 2nd ed., Springer-Verlag, Berlin.
30. Machado, J.T. 2012. Shannon Entropy Analysis of the Genome Code. Hindawi Publishing Corporation Mathematical Problems in Engineering Volume 2012, Article ID 132625, 12 pages DOI: 10.1155/2012/132625.
31. Monge, R.E. and J.L. Crespo. 2014. Comparison of complexity measures for DNA sequence analysis. 2014 International Work Conference on Bio-inspired Intelligence (IWOBI).
32. Neagoe, I.M., D. Popescu and V.I.R. Niculescu. 2014. Applications of entropic divergence measures for DNA segmentation into high variable regiones of cryposporidium spp. GP60 gene. Romanian Reports in Physics, 66(4): 1078-1087.
33. Ogorevc, J., T. Kunej, A. Razpet and P. Dovc. 2009. Database of cattle candidate genes and genetic markers for milk production and mastitis. Animal Genetics, 40: 832-851.
34. Penner, O., P. Grassberger and M. Paczuski. 2011. Sequence Alignment, Mutual Information, and Dissimilarity Measures for Constructing Phylogenies. PLOS ONE, 6(1): e14373. DOI: 10.1371/journal.pone.0014373.
35. Pham, T.D., D.I. Crane, D. Tannock and D. Beck. 2004, Kullback-Leibler dissimilarity of markov models for phylogenetic tree reconstruction. Proceeding of 2004 international Symposium on Inteligent Multimedia, Video and Speech Processing. October 20-22, 2004 HongKong.
36. Porto-DIaz, L., V. BolOn-Canedo, A. Alonso-Betanzos and O. Fontenla-Rome. 2011. A study of performance on microarray data sets for a classifier based on information theoretic learning. Neural Networks 24: 888-896.
37. Qi, J., B.Wang and B. Hao. 2004. Whole proteome prokaryote phylogeny without sequence alignment: a K-string composition approach. Journal Molecular and Evolution, 58: 1-11.
38. Reddy, Y.V. and A. Sebastian. 2009. Parameters for estimation of entropy to study price manipulation in stock markets", Research publication university of Dehli.
39. 39.Ruiz-Marin, M., M. Matilla-Garcia, J.A.G. Cordoba, J.L. Susillo-Gonzalez, A. Romo-Astorga, A. Gonzalez-Pérez, A. Ruiz and J. Gayan. 2010. An entrpyetest for single-locus genetic association analysis. BMC Genetics, 11: 19.
40. Sims, G.E., S.R. Jun, G.A. Wu and S.H. Kim. 2009. Alignment-free genome comparison with feature frequency profiles (FFP) and optimal resolutions. Proceedings of the National Academy of Sciences. 106(8): 2677-2682.
41. Shannon, C. 1948. A mathematical theory of communication. Bell System Technical Journal, 27: 379-423 and 623-656.
42. Sherwin, B.W. 2010. Entropy and information approaches to genetic diversity and its expression: genomic geography. Entropy, 12: 1765-1798; DOI: 10.3390/e12071765.

43. Stuart G.W, K. Moffet and S. Baker. 2002. Integrated gene species phylogenies from unaligned whole genome protein sequences. Bioinformatics, 18: 100-108.
44. Stuart, G.W., K. Moffet and J.J. Leader. 2002. A comprehensive vertebrate phylogeny using vector representations of protein sequences from whole genomes. Molecular Biology and Evolution., 19: 554-562.
45. Sundekilde, U.K., L.B. Larsen and H.C. Bertram. 2013. NMR-Based Milk Metabolomics. Metabolites, 3:204-222.
46. Tautz, D. and M. Trick, G.A. Dover. 1986. Cryptic simplicity in DNA is a major source of genetic variation. Nature, 322: 652-656.
47. Tomovic, A. and E.J Oakeley. 2007. Position dependencies in transcription factor binding sites. Bioinformatics, 23(8): 933-941 DOI: 10.1093/bioinformatics/btm055.
48. Vinga, S. and J. Almeida. 2003. Alignment-free sequence comparison: review. Bioinformatics, 19(4): 513-523.
49. Vinga, S. 2013. Information theory applications for biological sequence analysis. Briefings in Bioinformatics, 15(3): 376-389, DOI: 10.1093/bib/bbt068.
50. Warde-Farley, D., S.L. Donaldson, O. Comes, K. Zuberi, R. Badrawi, P. Chao, M. Franz, C. Grouios, F. Kazi, C.T. Lopes, A. Maitland, S. Mostafavi, J. Montojo, Q. Shao, G. Wright, G.D. Bader and Q. Morris. 2010. The GeneMANIA prediction server: biological network integration for gene prioritization and predicting gene function. Nucleic Acids Research, 2010, Vol. 38, Web Server issueDOI:10.1093/nar/gkq537.
51. Warnow, T.2013. Large-scale multiple sequence alignment and phylogeny estimation. In: Models and Algorithms for Genome Evolution. Springer, 85-146pp.
52. Xie, X., Y. Yu, G. Liu, Z. Yuan and J. Song. 2010. Complexity and Entropy Analysis of DNA Methyltransferase. J Data Mining in Genom Proteomics, 1(2): 1000105.
53. Yu, Z.G., V. Anh and K.S. Lau. 2003. Multifractal and correlation analysis of protein sequences from complete genome, Physical Review E, 68: 021913.
54. Yu, Z.G, V.V. Anh and L.Q. Zhou. 2005. Fractal and dynamical language methods to construct phylogenetic tree based on protein sequences from complete genomes, in L.Wang, K. Chen and Y.S. Ong (Eds): ICNC 2005, *Lecture Notes in Computer Science*, 3612: 337-347, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
55. Yu, Z.G., L.Q. Zhou, V. Anh and K.H. Chu. 2007. Phylogeny of prokaryotes and chloroplasts revealed by a simple composition approach on all protein sequences from whole genome without sequence alignment, Journal of Molecular Evolution, 60: 538-545.
56. Zhang, JL., L.S. Zan, P. Fang, F. Zhang, G.L. Shen and W.Q. Tian. 2008. Genetic variation of PRLR gene and association with milk performance traits in dairy cattle. Canadian Journal of Animal Science, 88: 33-39.
57. Zhou, L.Q., Z.G. Yu, V. Anh, P.R. Nie, F.F. Liao and Y.J. Chen. 2007. Log-correlation distance and Fourier transformation with Kullback-Leibler divergence distance for construction of vertebrate phylogeny using complete mitochondrial genomes. In Proceedings of the 3nd International Conference on Natural Computation (ICNC2007), Haikou, China, August, 2007: 304-308.

Clustering of a Number of Genes Affecting in Milk Production using Information Theory and Mutual Information

Hoshang Dehghanzadeh[1], Seyed Zeaoddin Mirhoseini[2], Mostafa Ghaderi-Zefrehei[3], Hasan Tavakoli[4] and Saeed Esmaeilkhaniyan[5]

1- Assistant Professor, Department of Animal Science Research, Gilan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Rasht, Iran, (Corresponding auther: H_dehghanzadeh@yahoo.com)
2- Professor of Genetics, Department of Animal Sciences, Faculty of Agricultural Sciences, University of Gilan, Rasht, Iran
3- Assistant Professor, Department of Animal sciences, Faculty of Agriculture, University of Yasouj, Yasouj, Iran
4- Assistance Professor, Department of Electrical Engineering, Faculty of Electrical Engineering, University of Gilan, Rasht, Iran
5- Associate Professor, Department of Animal Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
Received: October 6, 2017 Accepted: September 22, 2018

Abstract

Information theory is a branch of mathematics. Information theory is used in genetic and bioinformatics analyses and can be used for many analyses related to the biological structures and sequences. Bio-computational grouping of genes facilitates genetic analysis, sequencing and structural-based analyses .In this study, after retrieving gene and exon DNA sequences affecting milk yield in dairy cattle, the entropy in orders one to four for each gene and eta exons was calculated. In order to extract gene distances, mutual information method was calculated. The results of mutual information of DNA and exon sequences were entered as input into 7 general clustering algorithms. In order to aggregate the results of clustering, AdaBoost algorithm was used. Finally, the results of AdaBoost algorithm were investigated by GeneMANIA prediction server to explore the results from gene annotation point of view Integrated result of each clustering algorithm due to AdaBoost algorithm, which implied as gene tree, indicated that proposed method biologically grouped set of genes as it was proved by their gene annotation using GeneMANI. We believe that the proposed method might be used with other DNA based clustering competitive methods and therefore, it can be used to group set of genes in other species.

Keywords: Dairy cattle, Entropy, Gene clustering, Information theory, Mutual information