

# TP 1 : Lecture et Visualisation de Séquences d'ADN: Logiciel Séquence Scanner

## L'intérêt de l'étude de la bioinformatique

- L'identification
- La taxonomie
- L'Evolution

## Les étapes de l'identification moléculaire :

Extraction, PCR, Electrophorèse, Séquençage et Analyse Bioinformatique

## Le choix du gène ARNr16S pour l'identification moléculaire

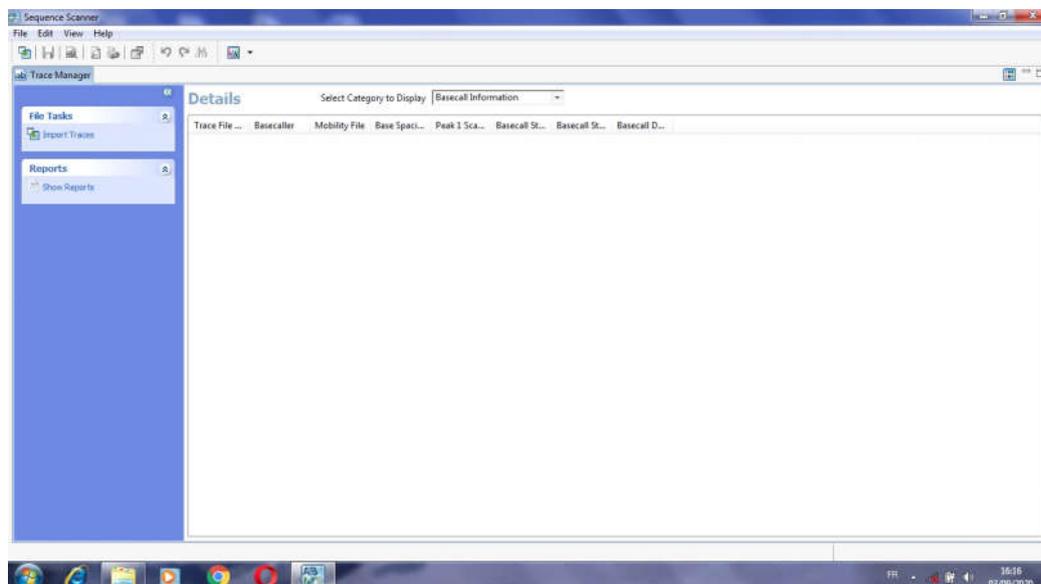
- La stabilité des extrémités du gène permet la synthèse d'amorces universelles.
- La grande base de données disponible sur internet utile pour la comparaison.
- C'est un gène universel présent chez tous les êtres vivants.
- Il contient des régions stables à vitesse d'évolution faible et des régions instables à vitesse d'évolution élevée.

## Les alternatives du gène ARNr16S dans l'identification moléculaire ?

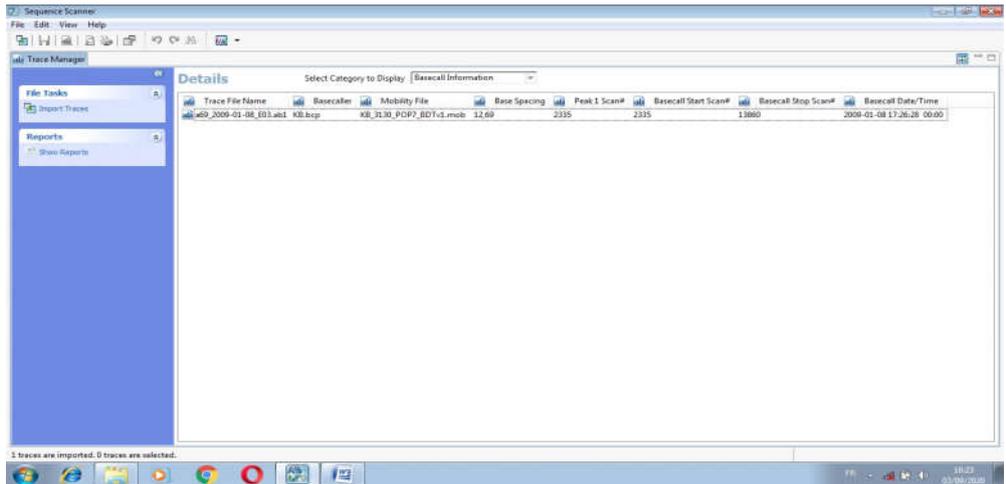
- Gène tuf
- Gènes codants pour: Enzyme, toxine, récepteur, hormone.

## Le rôle du logiciel Séquence Scanner

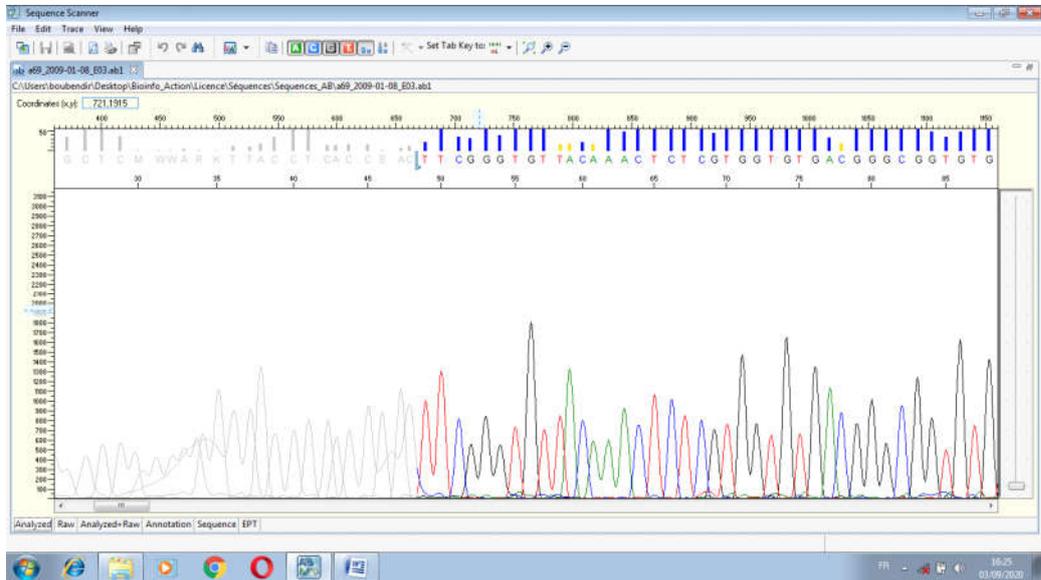
Le logiciel Séquence Scanner (Applied Biosystems) permet de lire et visualiser les fichiers AB du séquenceur, sa manipulation s'effectue selon les étapes suivantes :



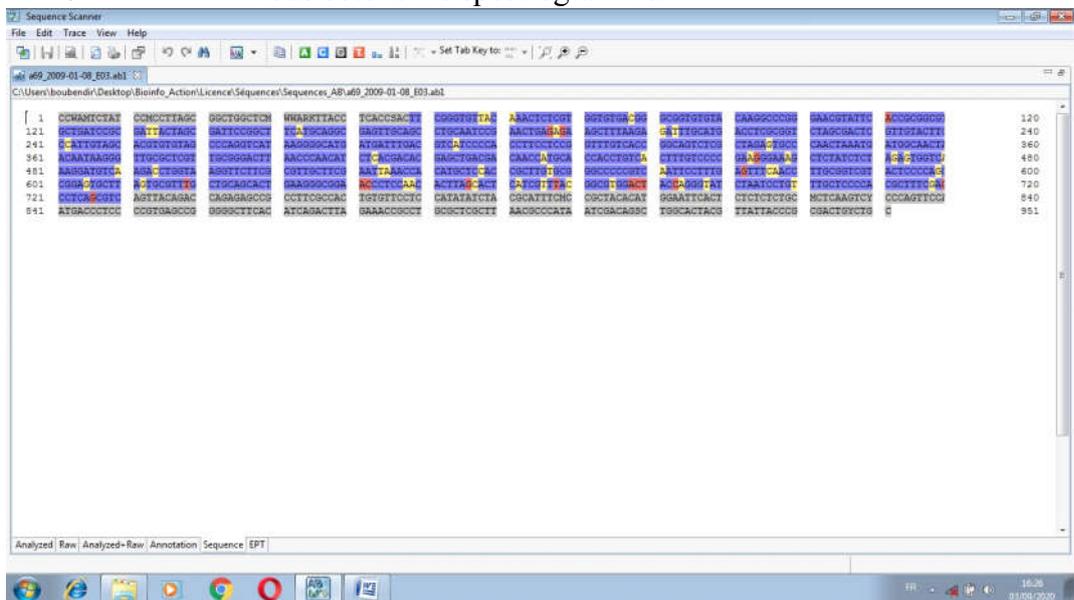




Le fichier AB est prêt pour lecture. Cliquer deux fois successivement pour l'ouvrir.



Vous obtenez le spectrogramme.





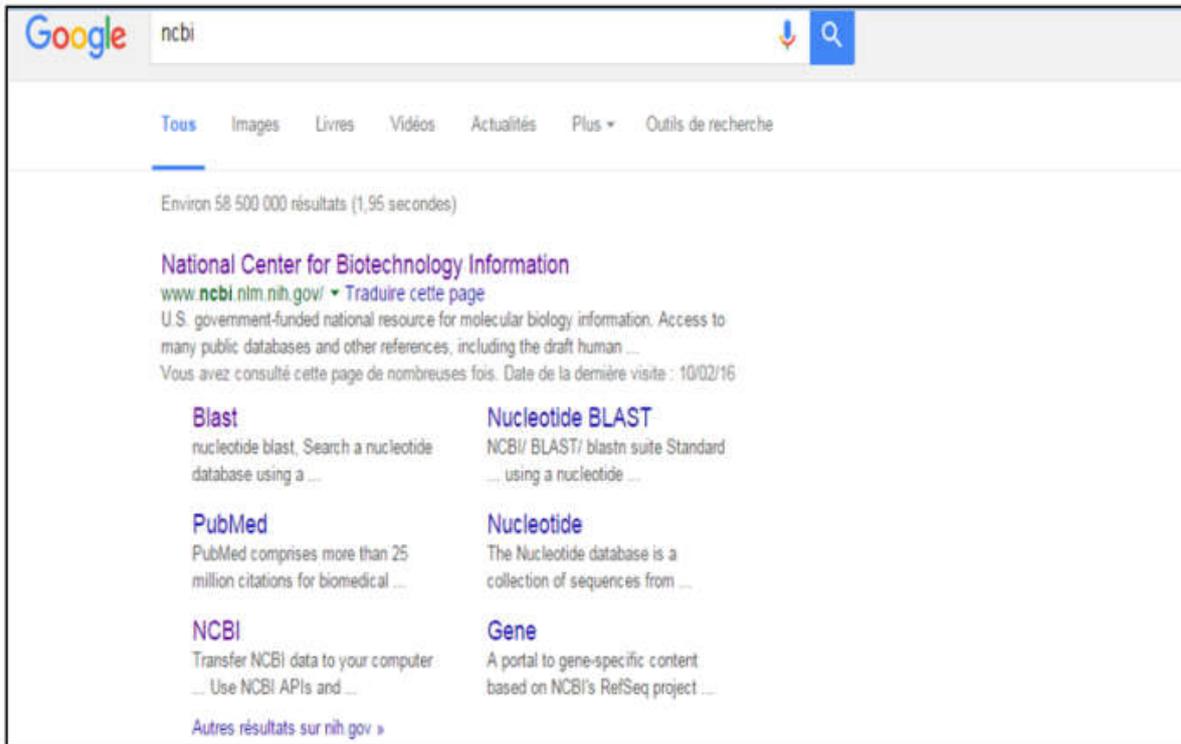
Cliquer sur Sequence pour visualiser les détails de votre ADN.

## **TP 2 : Recherche d'Alignement des séquences du gène ARNr16S sur NCBI**

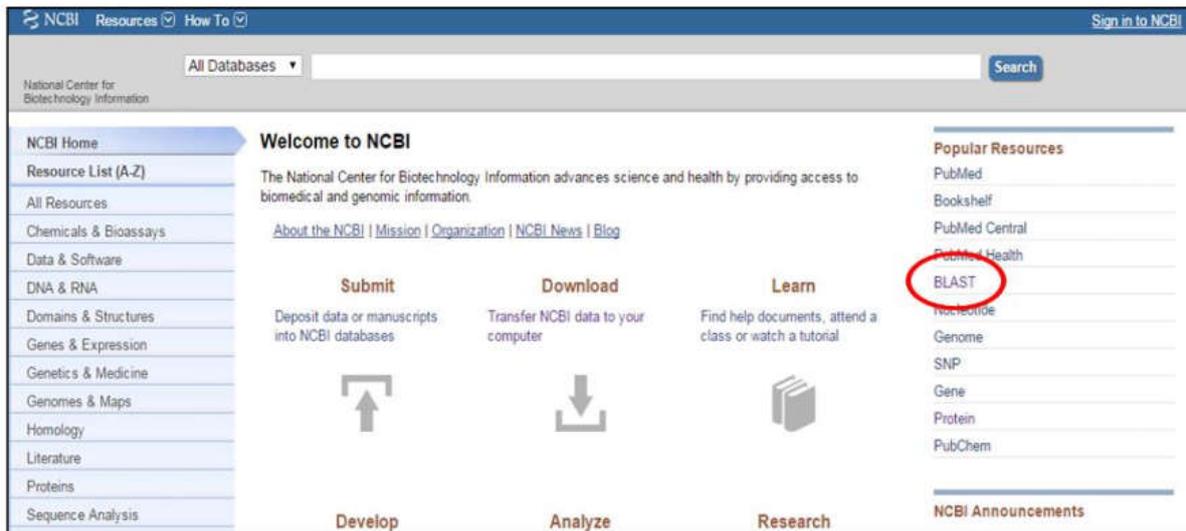
### **Etapes du travail**

- Ouverture du lien NCBI sur internet par l'utilisation du moteur de recherche Google
- Choix du programme BLAST
- Choix de l'outil nucleotide BLASTn
- Insertion de la séquence ADN ou le Numéro d'Accès sur Gene Bank et activation de l'outil BLAST
- Lecture de la liste des résultats de l'Alignement
- Lecture du détail des résultats de l'Alignement
- Récolte des informations sur l'individu par le numéro d'accès sur Gene Bank :Auteur, affiliation, publication, séquence, etc.

### **1. Ouverture du lien NCBI sur internet par l'utilisation du moteur de recherche Google**



## 2. Choix du programme BLAST



## 3. Choix de l'outil nucleotide BLASTn

**Basic Local Alignment Search Tool**

BLAST finds regions of similarity between biological sequences. The program compares nucleotide or protein sequences to sequence databases and calculates the statistical significance. [Learn more](#)

**NEWS**  
**Magic-BLAST 1.2.0 released**  
 A new version of the BLAST RNA-seq mapping tool is now available.  
 Mon, 27 Feb 2017 14:00:00 EST [More BLAST news...](#)

**Web BLAST**

**Nucleotide BLAST**  
 nucleotide ▶ nucleotide

**blastx**  
 translated nucleotide ▶ protein

**tblastn**  
 protein ▶ translated nucleotide

**Protein BLAST**  
 protein ▶ protein

**4. Insertion de la séquence ADN ou le Numéro d'Accès sur Gene Bank et activation de l'outil BLAST**

BLAST® Basic Local Alignment Search Tool

Home Recent Results Saved Strategies Help

My NCBI Register

NCBI/BLAST/blastn suite

Standard Nucleotide BLAST

blastn blastp blastx tblastn tblastx

BLASTN programs search nucleotide databases using a nucleotide query. [more...](#) [Reset page](#) [Bookmarks](#)

Enter Query Sequence

Enter accession number(s), g(s), or FASTA sequence(s)

Clear Query subrange

From To

Or, upload file

Choisissez un fichier Aucun fichier choisi

Job Title

Enter a descriptive title for your BLAST search

Align two or more sequences

Choose Search Set

Database

Human genomic + transcript Mouse genomic + transcript  Others (nr etc.)

Nucleotide collection (nr/nt)

Limit by

Organism BioProjectID WGS Project

**5. Lecture de la liste des résultats de l'Alignement**

Sequences producing significant alignments:

Select:  All  None Selected: 0

Alignments Download GeneBank Graphics Distance tree of results

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<input type="checkbox"/> <a href="#">Chryseobacterium indologenes partial 16S rRNA gene, isolate 6</a>	1328	1328	100%	0.0	100%	<a href="#">HF678414.1</a>
<input type="checkbox"/> <a href="#">Chryseobacterium indologenes partial 16S rRNA gene, isolate 12</a>	1323	1323	100%	0.0	99%	<a href="#">HF678419.1</a>
<input type="checkbox"/> <a href="#">Chryseobacterium indologenes partial 16S rRNA gene, isolate 3</a>	1323	1323	100%	0.0	99%	<a href="#">HF678415.1</a>
<input type="checkbox"/> <a href="#">Bacterium 14S134.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	1317	1317	100%	0.0	99%	<a href="#">KC734365.1</a>
<input type="checkbox"/> <a href="#">Bacterium 14S132.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	1317	1317	100%	0.0	99%	<a href="#">KC734363.1</a>
<input type="checkbox"/> <a href="#">Chryseobacterium enrichment culture clone RA-M137.16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	1317	1317	100%	0.0	99%	<a href="#">J0083171.1</a>

**6. Lecture du détail des résultats de l'Alignement**

Download ▾ GenBank Graphics ▾ Next ▾ Previous ▾ Descriptions

Chryseobacterium indologenes partial 16S rRNA gene, isolate 6  
Sequence ID: [em|HF678414.1](#) Length: 719 Number of Matches: 1

Range 1: 1 to 719 [Sequence](#) [Graphics](#) ▾ Next Match ▾ Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1328 bits(719)	0.0	719/719(100%)	0/719(0%)	Plus/Minus

Query 1 TGC GCGATTACTAGCGATTCCAGCTTCATAGAGTCSAGTTSCAGACTCCAATCCGAACCTG 60  
 Sbjct 719 TGC GCGATTACTAGCGATTCCAGCTTCATAGAGTCSAGTTSCAGACTCCAATCCGAACCTG 60

Query 61 AGACCGGCTTCGAGATTGTCATCAGTCGCTGTGTAGCTGCCCTCTGTACCGGCCATTG 120  
 Sbjct 659 AGACCGGCTTCGAGATTGTCATCAGTCGCTGTGTAGCTGCCCTCTGTACCGGCCATTG 600

Query 121 TATTACGTGTGTGSCCAAGCGCTAAGGCGCTGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCC 180  
 Sbjct 599 TATTACGTGTGTGSCCAAGCGCTAAGGCGCTGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCC 540

Query 181 TCTCTACTTTCGCTAGGCACTCACTAGAGTCCCAACTTAATGATGCACTAGTGACA 240  
 Sbjct 539 TCTCTACTTTCGCTAGGCACTCACTAGAGTCCCAACTTAATGATGCACTAGTGACA 480

Query 241 GGGGTTGCGCTGTTTCAGGACTTAACCTAACACCTCACGSCAGACTGACGCAACCA 300  
 Sbjct 479 GGGGTTGCGCTGTTTCAGGACTTAACCTAACACCTCACGSCAGACTGACGCAACCA 420

Query 301 TGCAGCACCTTGAAAATGTCCGAAGAAAAGTCTATTTCTAAACCTGTGATTTCCCATTT 360  
 Sbjct 419 TGCAGCACCTTGAAAATGTCCGAAGAAAAGTCTATTTCTAAACCTGTGATTTCCCATTT 360

7. **Récolte des informations sur l'individu par le numéro d'accès sur Gene Bank :Auteur, affiliation, publication, séquence, etc.**

Chryseobacterium indologenes partial 16S rRNA gene, isolate 6

GenBank: [HF678414.1](#)

[FASTA](#) [Graphics](#)

Go to: ☺

LOCUS HF678414 719 bp DNA linear BCT 21-FEB-2013

DEFINITION Chryseobacterium indologenes partial 16S rRNA gene, isolate 6.

ACCESSION HF678414

VERSION HF678414.1 GI:452084714

KEYWORDS -

SOURCE Chryseobacterium indologenes

ORGANISM [Chryseobacterium indologenes](#)  
 Bacteria; Bacteroidetes; Flavobacteriia; Flavobacteriales;  
 Flavobacteriaceae; Chryseobacterium.

REFERENCE 1

AUTHORS Boubendir,A.

TITLE Analyse et prevalence du risque infectieux de Listeria monocytogenes dans les laits crus recoltés dans deux regions a climat different (Zone semi-aride et le Nord-Est algeriens) : Modelisation spatiale de la diversité floristique

JOURNAL Thesis (2012) Constantine 1 University, Algeria

REFERENCE 2 (bases 1 to 719)

AUTHORS Hamidechi,A.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (11-FEB-2013) Constantine University, Constantine, Route de Ain El-Bey, 25000, ALGERIA

FEATURES

source 1..719  
 /organism="Chryseobacterium indologenes"  
 /mol\_type="genomic DNA"  
 /isolate="6"  
 /isolation\_source="raw milk"  
 /db\_xref="taxon:253"

Customize view ▾

Analyze this sequence ▾  
 Run BLAST  
 Pick Primers  
 Highlight Sequence Features  
 Find in this Sequence

Related information ▾  
 Taxonomy

LinkOut to external resources ▾  
 Ribosomal Database Project II  
 [Ribosomal Database Project II]  
 SILVA SSU Database [SILVA]

Recent activity ▾  
 Turn Off Clear  
 Chryseobacterium indologenes partial 16S rRNA gene, isolate 6 Nucleotide  
 Nucleotide Sequence (719 letters) BLAST

**TP 3 : Introduction à l'Analyse Phylogénétique : Logiciel MEGA6**

Le logiciel MEGA 06 est utilisé dans l'analyse phylogénétique, il permet de réaliser :

- L'alignement multiple.
- La matrice des distances.
- L'arbre phylogénétique.

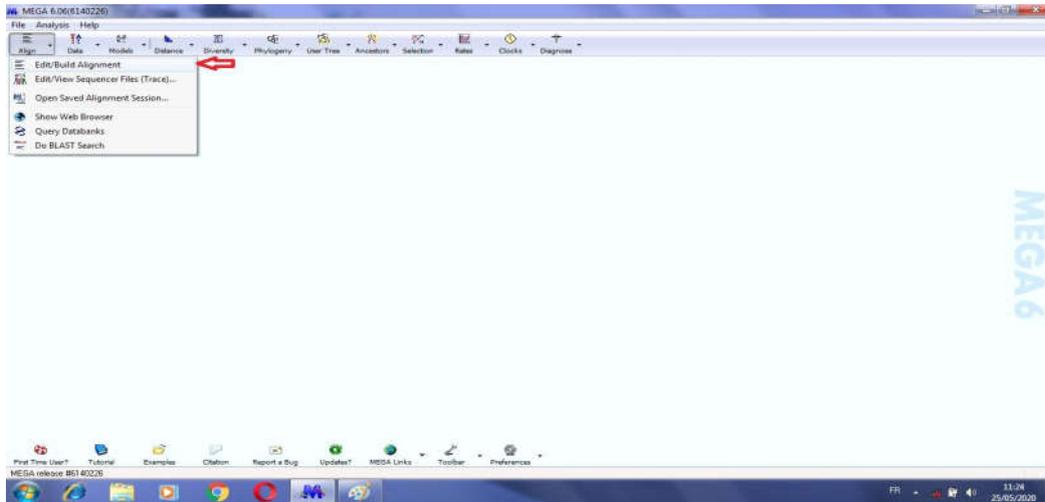
**L'intérêt de la comparaison des séquences d'ADN dans l'Alignement Multiple**

-Régions stables : comparaison des espèces éloignées.

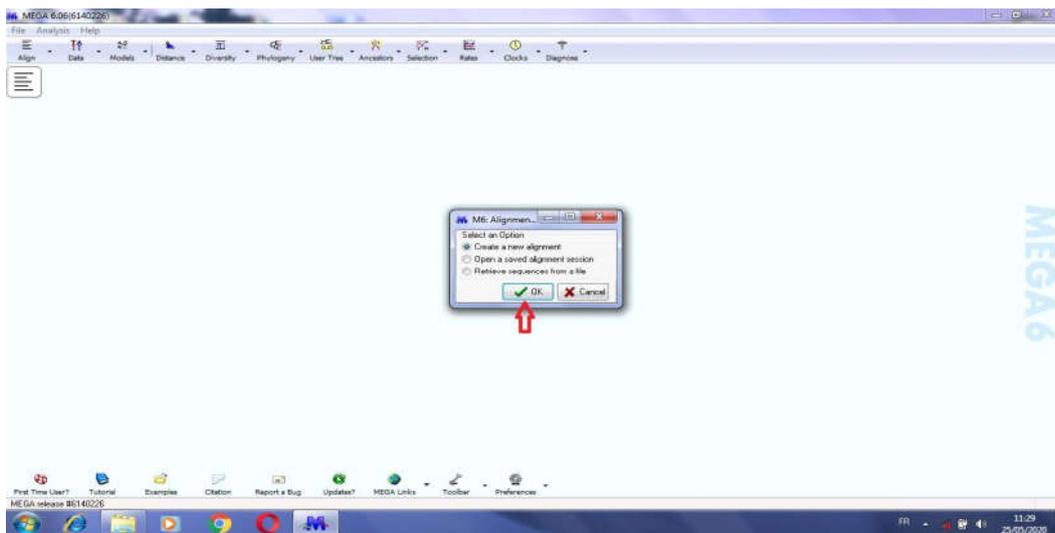
-Régions instables : comparaison des espèces proches.

La manipulation de ce logiciel s'opère selon les étapes suivantes :

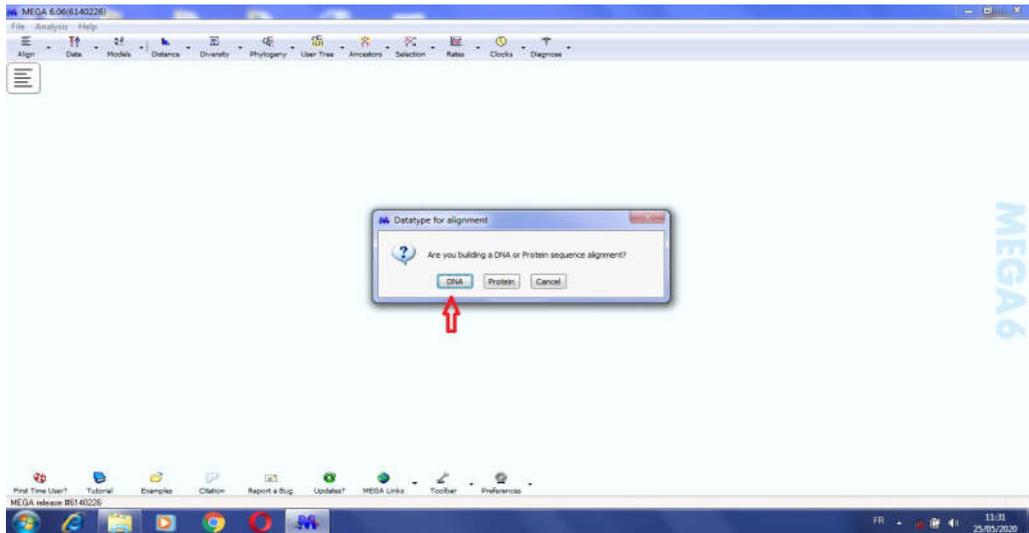
### 1. Alignement multiple : Alignment Explorer



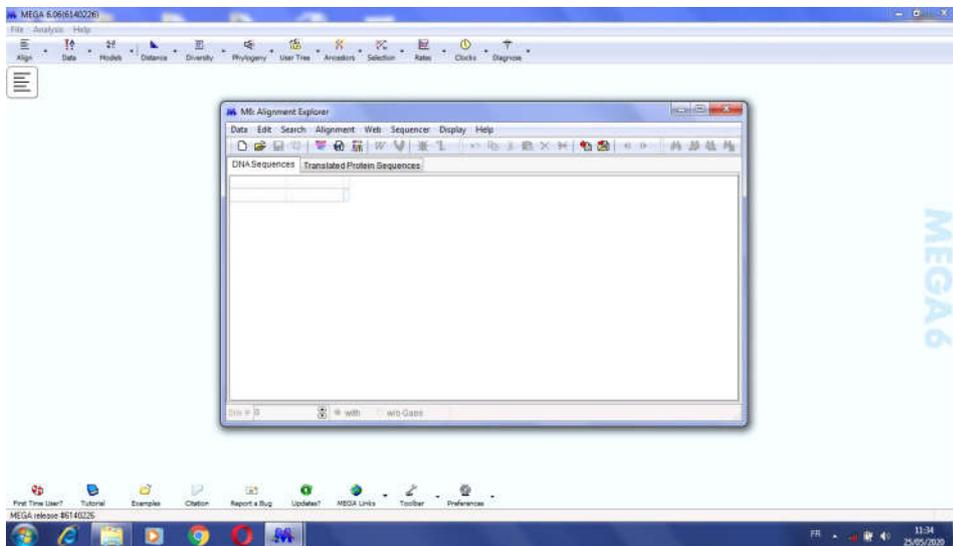
- Ouvrir le programme Alignment Explorer et cliquer sur Edit/Build Alignment.



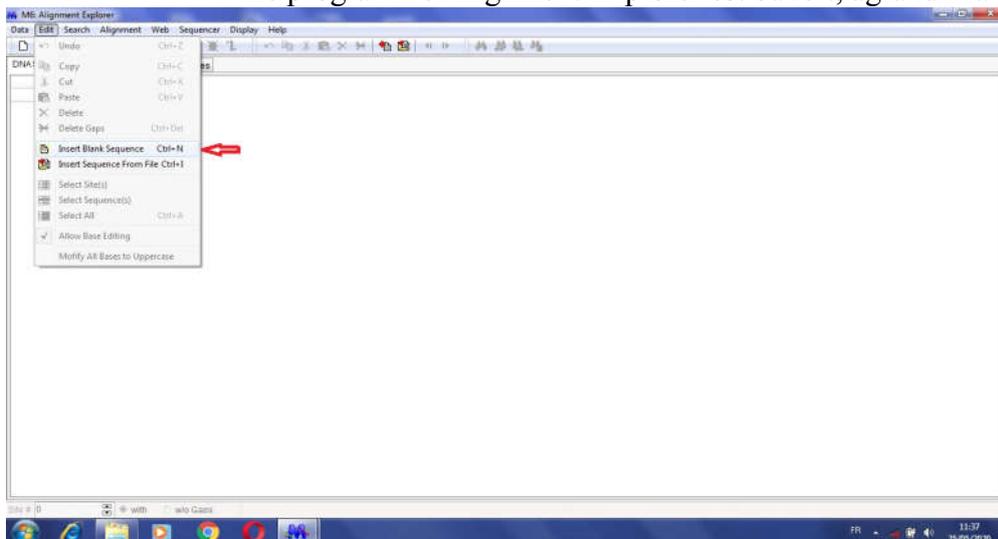
- Cliquer sur OK pour confirmer la création d'un nouveau alignement.



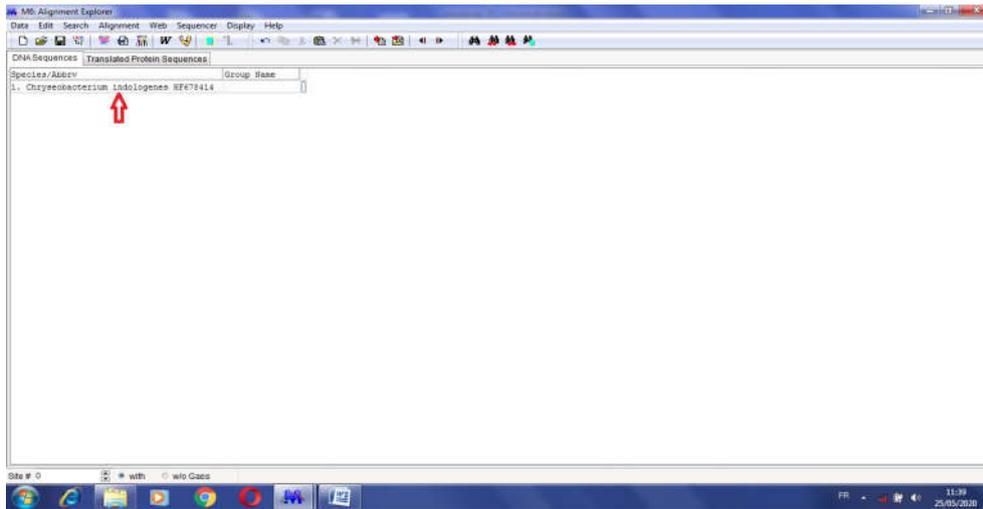
➤ Confirmer votre substrat d'analyse : ADN ou Protéine.



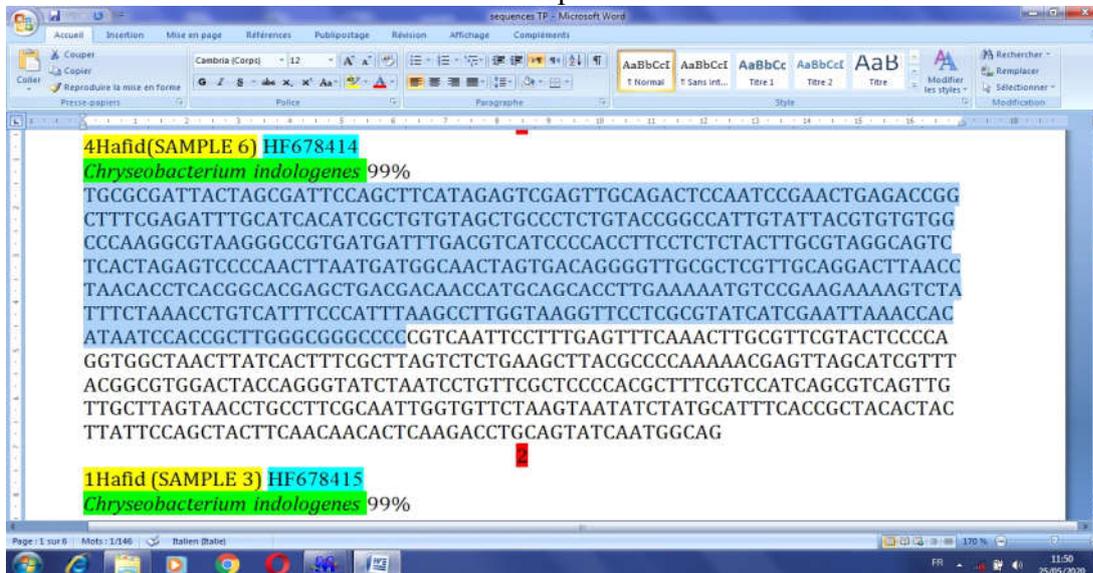
➤ Le programme Alignment Explorer est ouvert, agrandir la fenêtre.



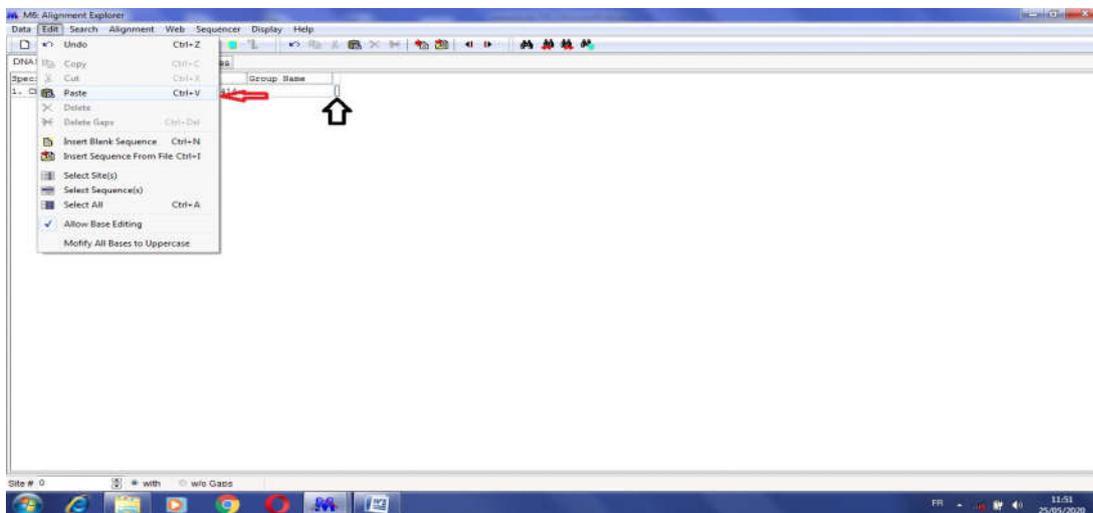
➤ Cliquer sur Edit\_Insert Blank Sequence.



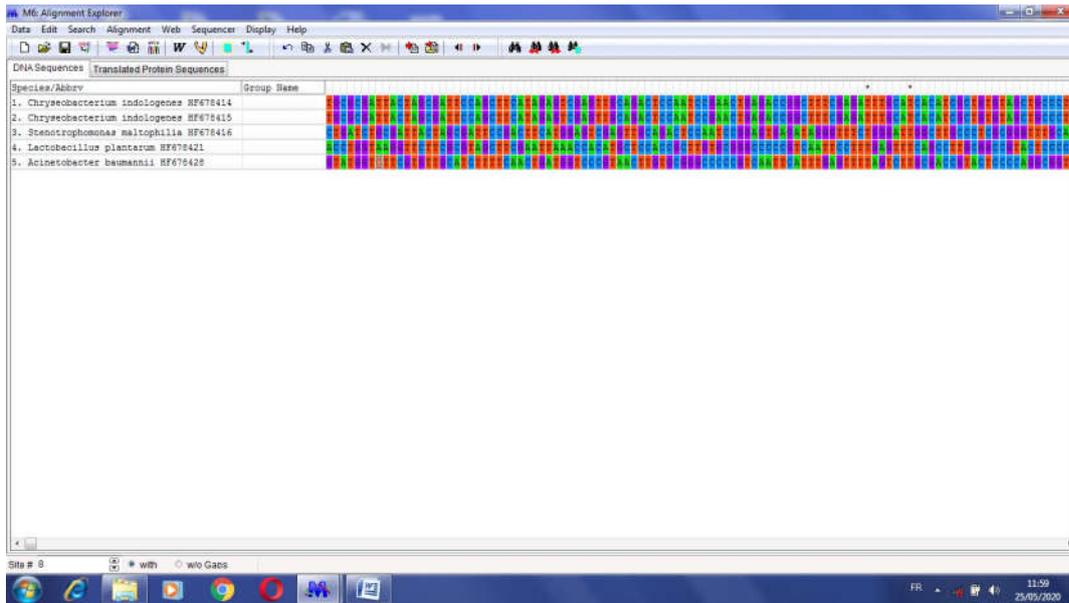
➤ Introduire le nom de l'espèce et son numéro d'accès sur Gene Bank.



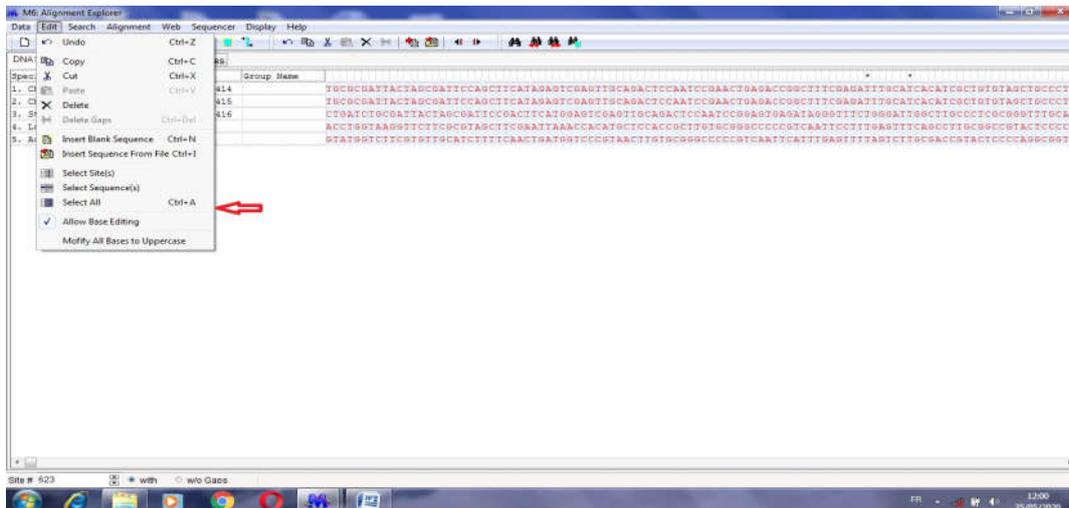
➤ Sélectionner et copier votre séquence à analyser (préparée au préalable).



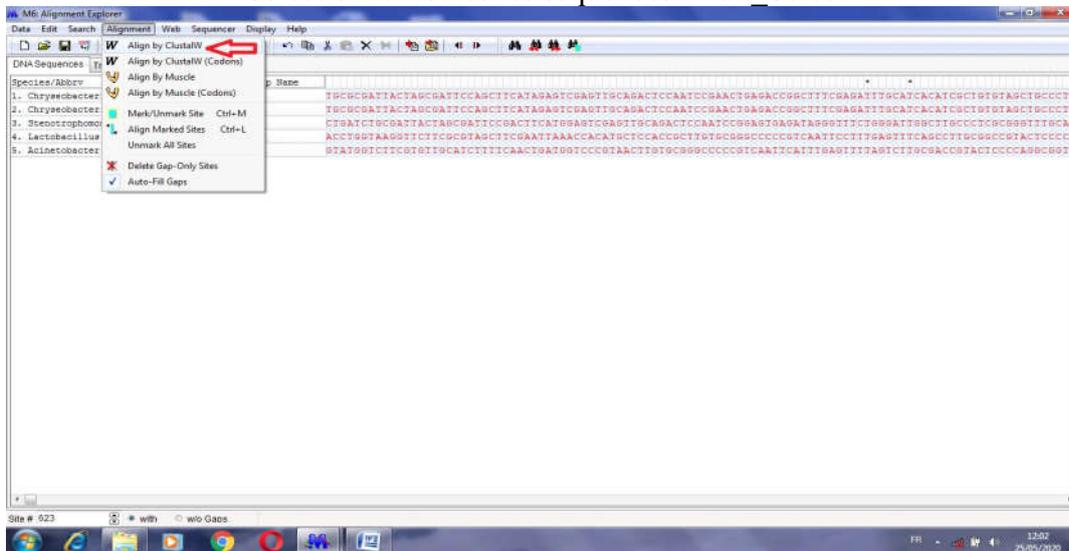
➤ Cliquer sur Edit\_Paste pour insérer la séquence dans l'endroit précisé.



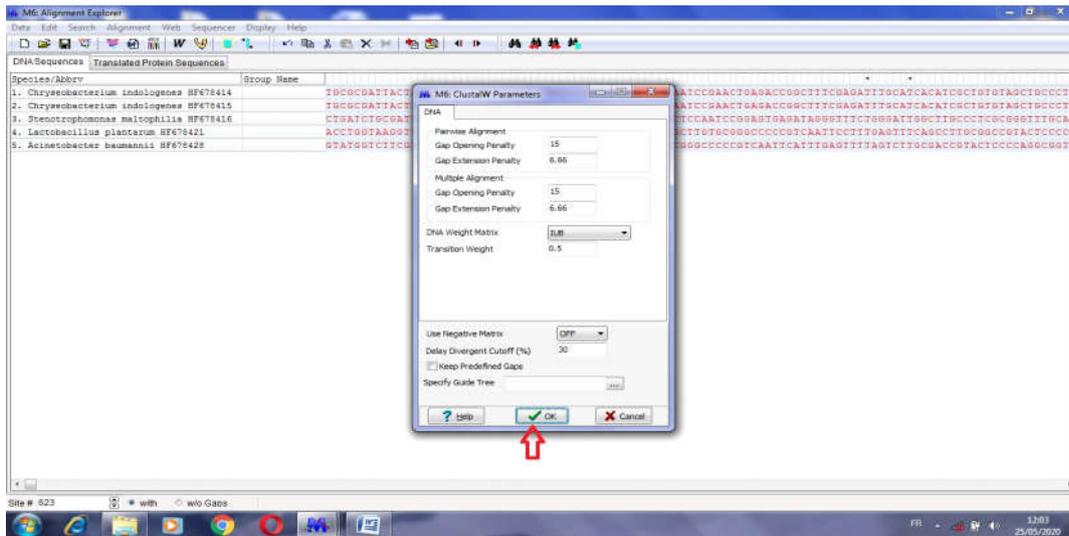
➤ Faire de même pour insérer les autres séquences.



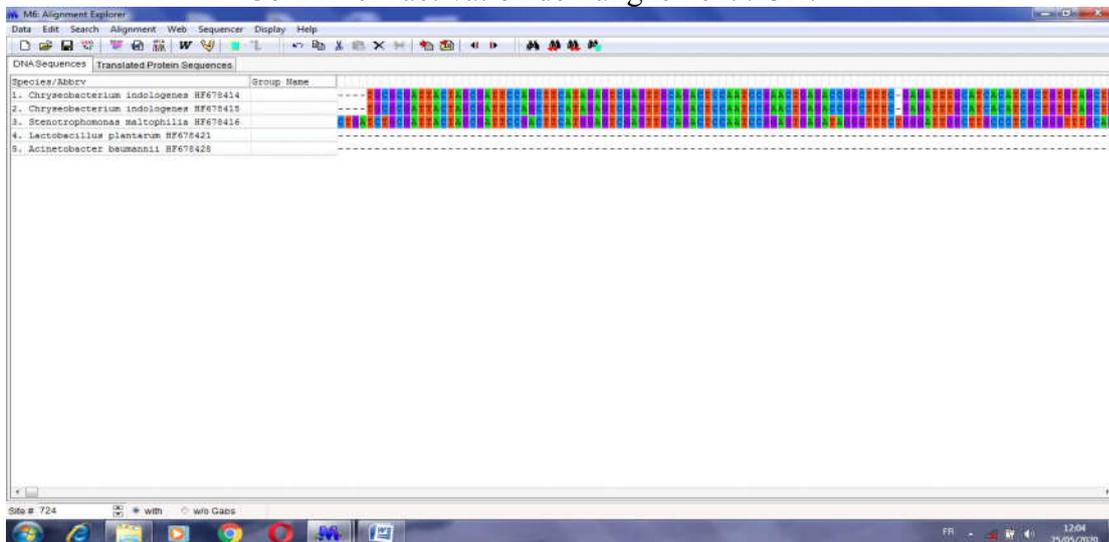
➤ Sélectionner toutes les séquences : Edit\_Select All.



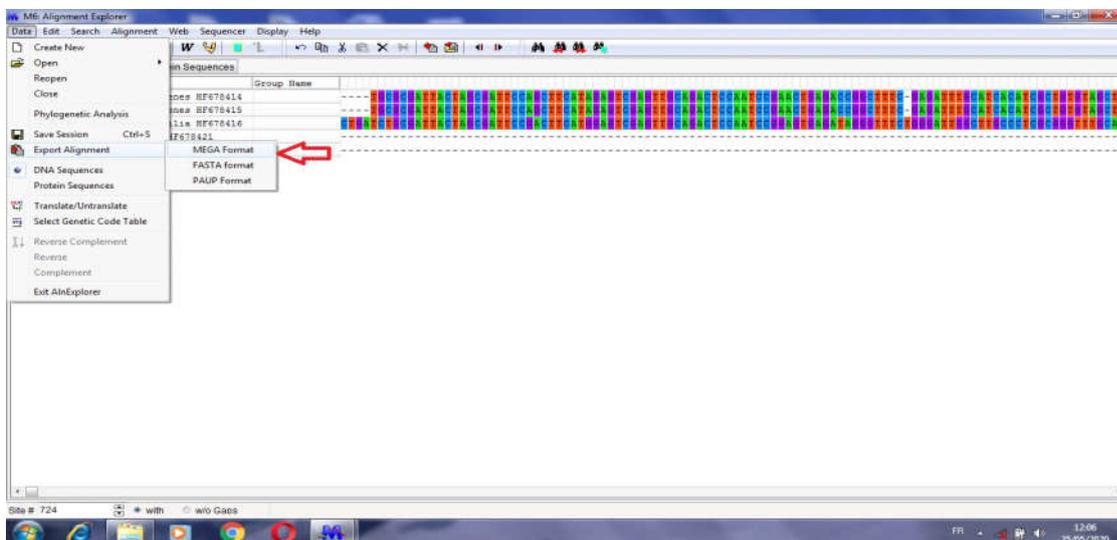
➤ Activer l'alignement : Alignment\_Align by ClustalW.



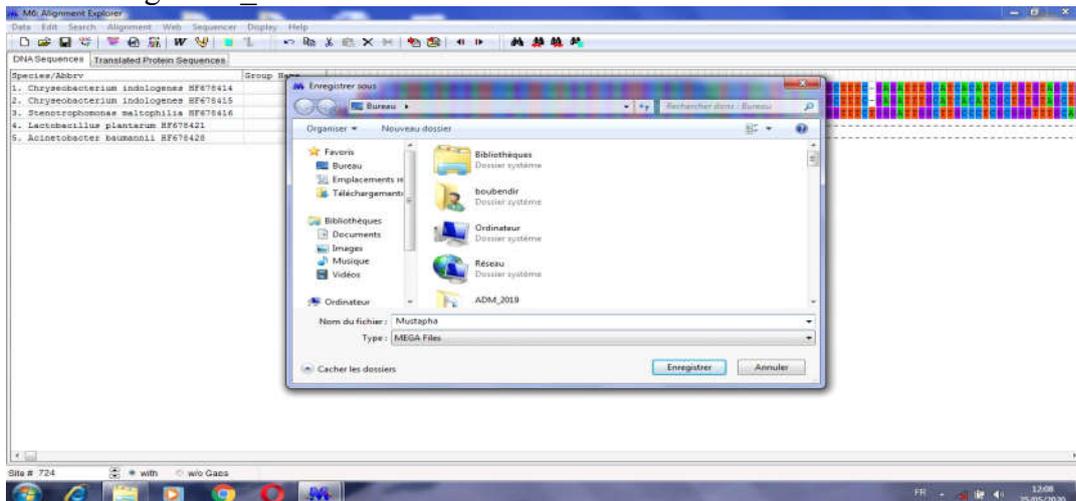
➤ Confirmer l'activation de l'alignement : OK.



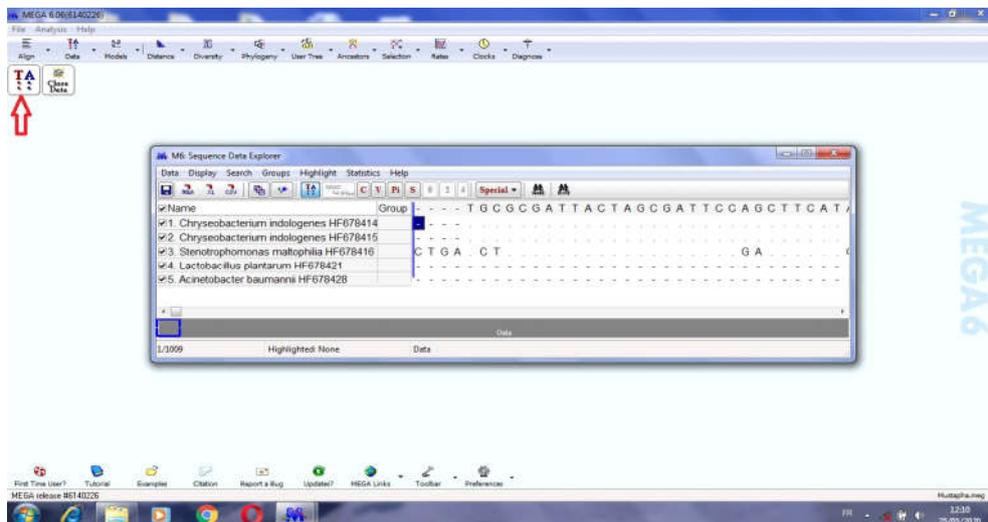
➤ L'apparition des GAP confirme la réalisation de l'alignement.



- Sauvegarder l'alignement sous format MEGA : Data\_Export  
Alignment\_MEGAFormat.

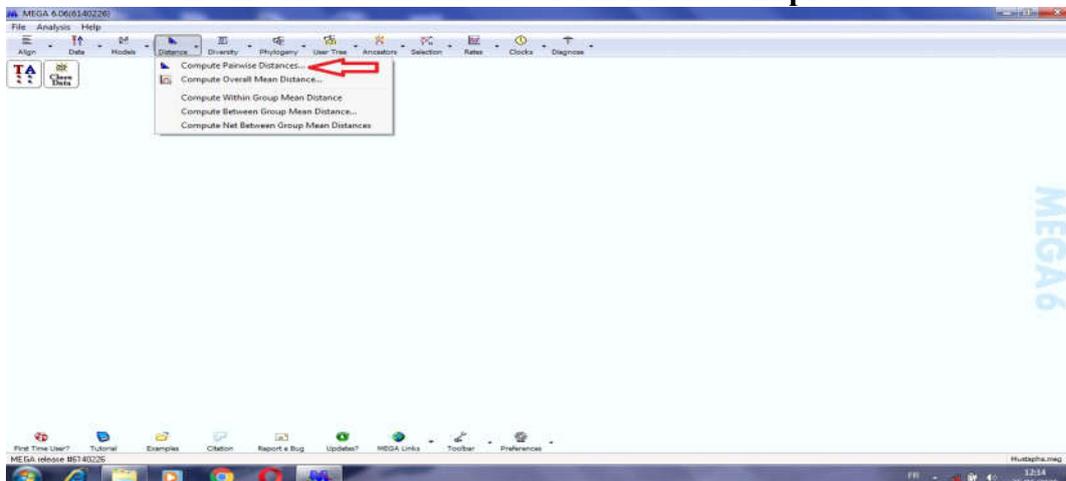


- Nommer le fichier MEGA et enregistrer.

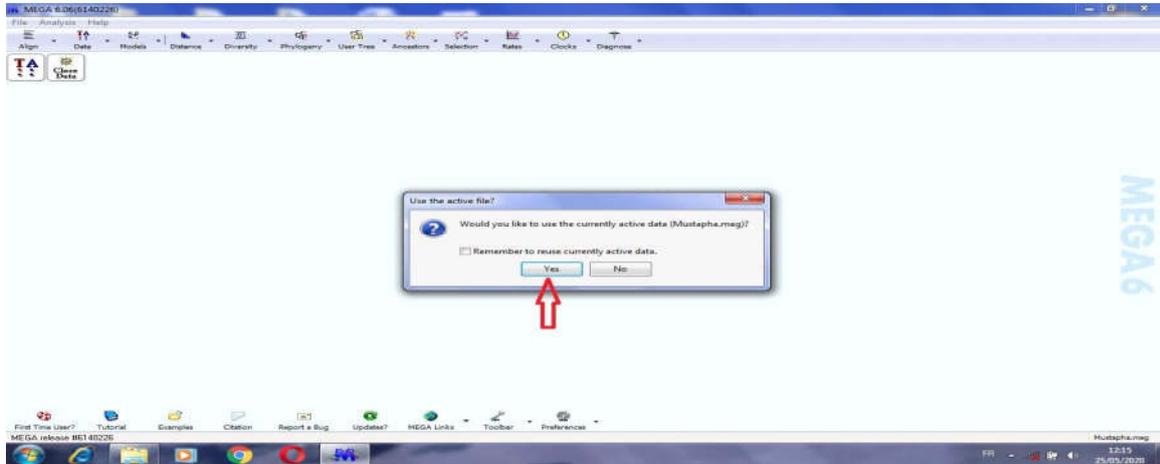


- Enfin, ouvrir le fichier MEGA et visualiser votre alignement.

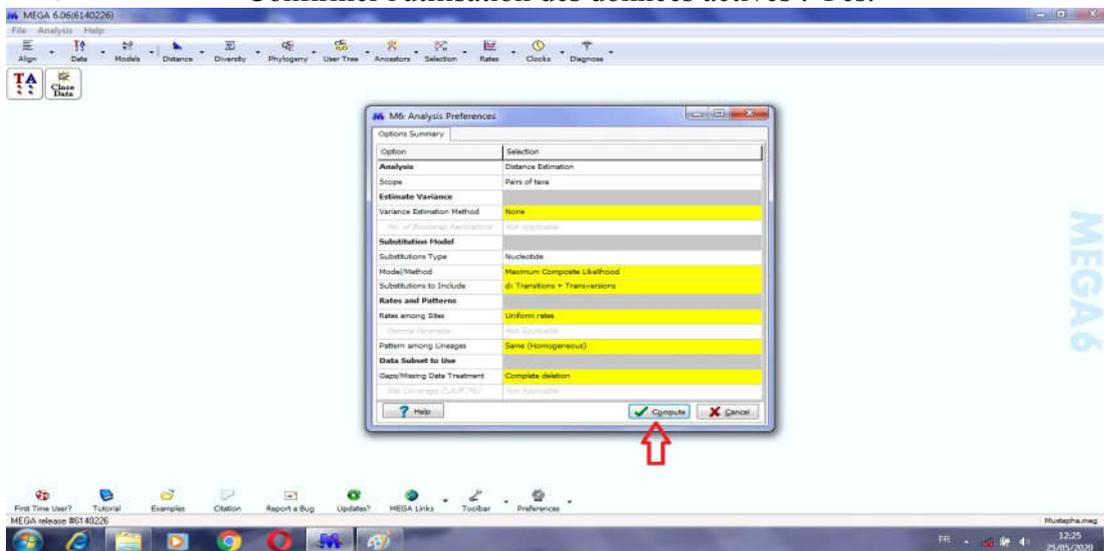
## 2. La matrice de distances : Marix Ditances Explorer



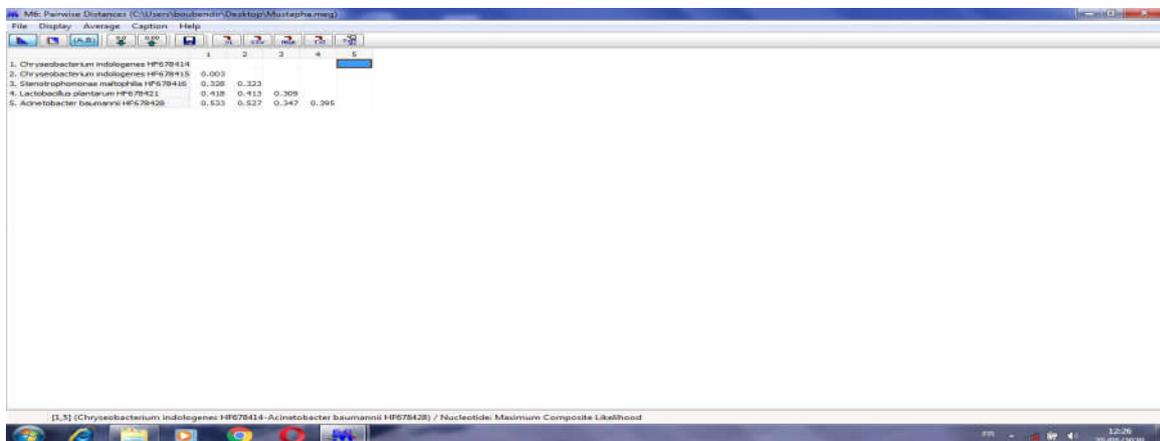
- Activer le programme Matrix Distance Explorer et choisir l'action ComputePairwise Distance.



- Confirmer l'utilisation des données actives : Yes.

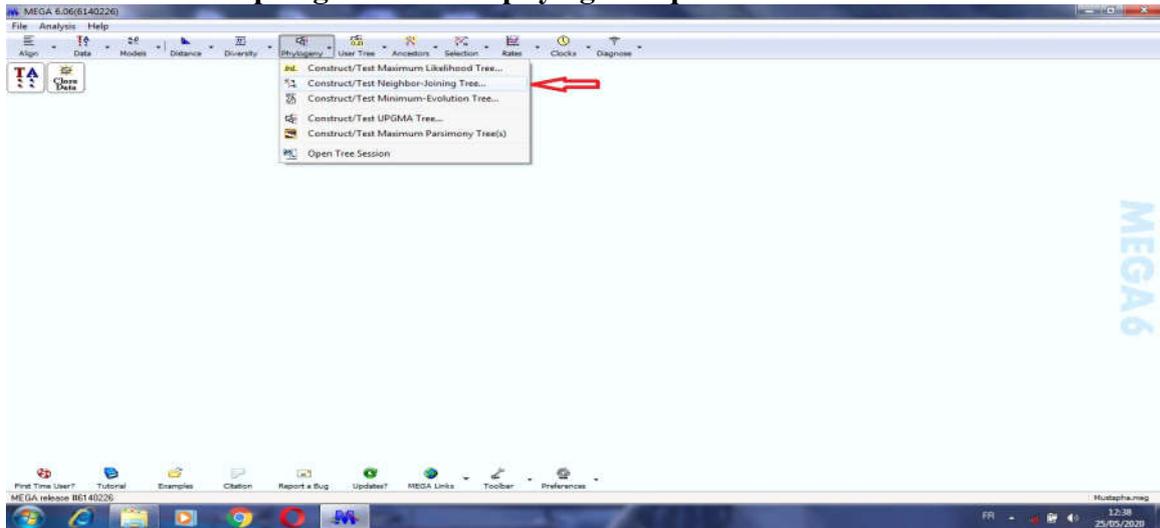


- Cliquer sur Compute pour lancer la matrice de distances.

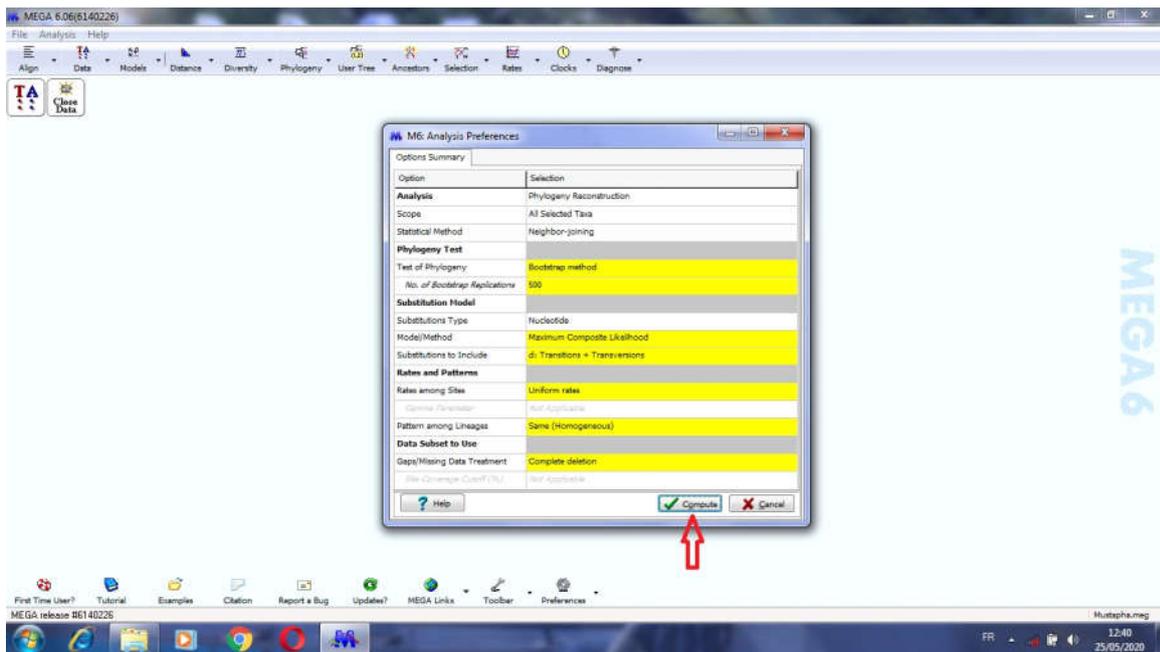


- Enfin, vous obtenez la matrice de distances.

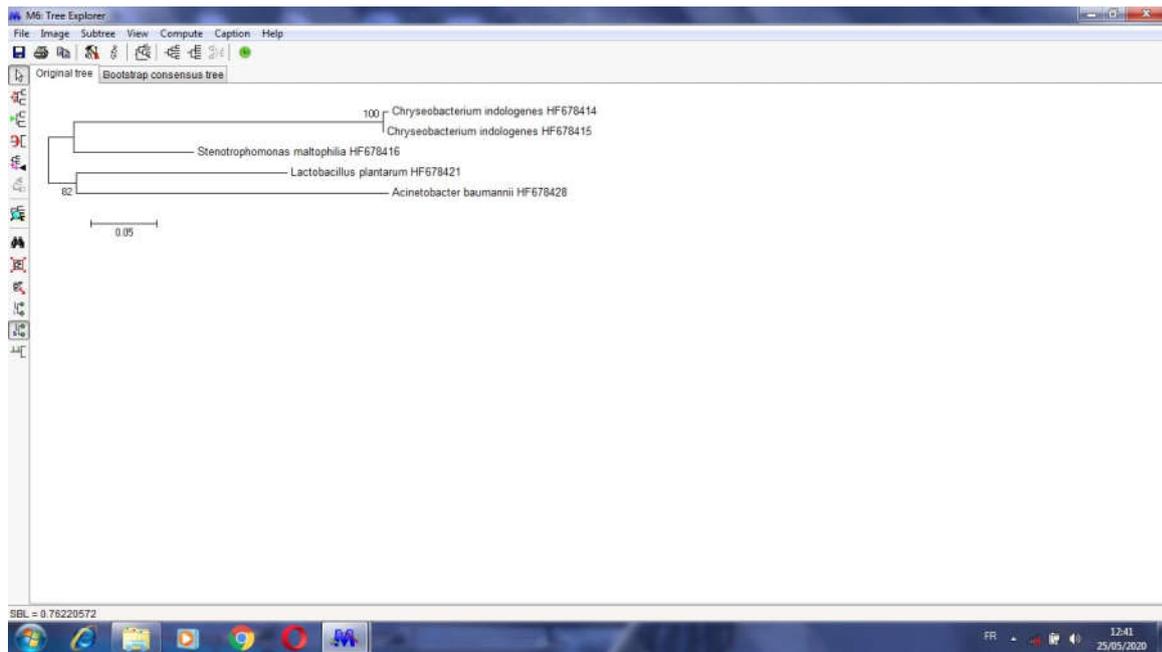
### 3. La topologie de l'arbre phylogénétique



- Activer le programme Tree Explorer et sélectionner la méthode de construction de l'arbre NJ ou autres.



- Lancer la construction avec le test bootstrap.



➤ Enfin, vous avez l'arbre phylogénétique