1. Manipulation du logiciel MEGA 06

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

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

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.

WEGA 6.06(6140226)	- 0 ×
File Analysis Help	
「三」、「登」をし、「「「」」を「「「」」を「「」」を、「「」」を、「「」」を、「「」」を、「「」」を、「「」」を、「「」」を、「「」」を、「」」を、「」を、「	
Agn Data Model Datance Diversity Phylogeny User Tree Anceston Selection Rates Cocks Dispose	
MELus release #b (4)22b	
🚱 🖉 📜 🖸 🌖 🚺 👫	11:31 25/05/2020

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

W MEGA 6.06(6140226)	- 0 ×
File Analysis Help	
「三 . 於 . ஜ . 『 @ . @ . ஜ . ஜ . ஜ . ஜ . ஜ . ஜ . ஜ . ஜ .	
Align Data Models Distance Diversity Phylogeny User Tree Ancestors Selection Rates Clocks Diagnose	
Image: Second Alignment Explorer Image: Second Alignment Web Sequences Image: Sequences	
First Time User? Tutorial Examples Citation Report a Bug Updates? MEGA Links Toolbar Preferences	
MELA release B3 40226	
🛞 🖉 🚊 🖸 🤍 🚺 👫	⁾⁾ 25/05/2020

· 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.

🗰 M6: Alignment Explorer	
Data Edit Search Alignment Web Sequencer Display	Help
🗅 😅 🖬 📽 🗮 🌚 🎆 W 😽 💥 🏌	○ Bit X Bit X H M 20 (4) ▶ (44 44 44 44)
DNA Sequences Translated Protein Sequences	
Species/Abbrv Group N	ane × *
1. Chryseobacterium indologenes HF678414	
2. Chryseobacterium indologenes HF678415	
3. Stenotrophomonas maltophilia HF678416	c iga ic iga sa iac sa iica iga ciga si ca si iga sa ciga sa ciga sa
 Lactobacillus plantarum HF678421 	
5. Acinetobacter baumannii HF678428	g i i se i i i ce se i scale i i i ca i se i se i scale i scale scale ca i i ca i i sa i ci i scale ca i aci i c
*	
Site # 8 💌 👁 with 🔿 w/o Gaps	
🚳 🖉 🔚 🖸 🌖 🔘	FR A 49 🕅 0 25/05/2020

Faire de même pour insérer les autres séquences.

🐝 M	6: Alig	gnment Explorer			
Data	Edit	t Search Alignment	Web Seq	uencer Display Help	
D	ŝ	Undo	Ctrl+Z	🎬 🎉 🗠 🖻 🕉 🙉 🗙 🛞 🐴 🛤 🎍 🌺 🏘	
DNA	-	Сору	Ctrl+C	83	
Spec	*	Cut	Ctrl+X	Group Name *	
1. 0	8	Paste	Ctrl+V	414 IGCGCGATTACTAGCGATTCCAGCTTCATAGAGTCGAGTTGCAGACTCCGAACTGAGACCGGCTTTCGAGATTGCATCACATCGCTGTGTAGCGCCCC	С
2. 0	×	Delete		415 TGCGCGATTACTAGCGATTCCAGCTTCATAGAGTCGAGTTGCAGACTCCAATCCGAACTGAGACCGGCTTTCGAGATTTGCATCACATCGCTGTGTAGCTGCCC	С
3. S	!₩	Delete Gaps	Ctrl+Del	416 CTGATCTGCGATTACGATTCCGACTTCATGGAGTCGAGTCCGACTCCGGATGGAGTAGGGTTTCTGGGATGGCTGCCCCGCGGGTTGCC brctGTblgCatTCTTCGGCGTGCCTTGbCTTGbCGCGGCGTCGACTCGGGCGCGCCGCGC	.G
5. A	8	Insert Blank Sequence	Ctrl+N	GTATGGTCTCGTGTGTGCATCTTTTCAACTGATGGTCCCGTAACTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCATTGAGTTTAGTCTGCGACCGTACTCCCCAGGCGG	c.
	2	Insert Sequence From F	File Ctrl+I		٦
		Select Site(s)			
		Select Sequence(s)			
		Select All	Ctrl+A		
	\checkmark	Allow Base Editing			
		Mofify All Bases to Upp	percase		
•					۴.
Site #	623	😇 🖲 with	© w/o (Gaos	
2		6	0		

· Sélectionner toutes les séquences: Edit_Select All.



Activer l'alignement : Alignment_Align by ClustalW.

M6: Alignment Explorer			
Data Edit Search Alignment Web Sequencer	Display Help		
📋 🗅 🚅 🖬 📽 🗮 🌚 🎆 W 😽 🎽	📜 ហ 🛍	👗 🛍 🗙 😣 🕴	18 / 10 / 10 / 10 / 10 / 10 / 10 / 10 /
DNA Sequences Translated Protein Sequences			
Species/Abbrv	Group Name		
1. Chryseobacterium indologenes HF678414		TGCGCGATTACT	T 🗰 M6: ClustalW Parameters ATCCGAACTGAGACCGGCCTTTCGAGATTGCATCACATCGCTGTGTAGCTGCCCTC
2. Chryseobacterium indologenes HF678415		TGCGCGATTACT	I NA ATCCGAACTGAGACCGGCTITCGAGATTGCATCACATCGCTGTGAGCTGCCCCC
3. Stenotrophomonas maltophilia HF678416		CIGATCIGCGAT	T DICCAATCCGGAGTGAGATAGGGTTGCGGATGGGCTGCCCCCGGGGGTTGCAG
4. Lactobacillus plantarum HF678421		ACCTGGTAAGGT	T Parwise Alignment PCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATICCTTTGAGTTTCAGCCTTGCGGCCGTACTCCCCA
5. Acinetobacter baumannii HF678428		GTATEGTCTTCG	G Gap Opening Penalty 15 GGGCCCCCGTCAATICATITGAGTITTAGTCTTGCGACCGTACTCCCCAGGCGGTC
			Gap Extension Penalty 6.66
			Multiple Alignment
			Gap Opening Penalty 15
			Gap Extension Penalty 6.66
			DNA Weight Matrix IUB
			Transition Weight 0.5
			Use Negative Matrix OFF
			Delay Divergent Cutoff (%) 30
			Rep Predenine Gaps
			Spectry Guide Tree
			P Help ✓ CK X Cancel
			10
			5
Site # 623 👻 🖲 with 🔿 w/o Gaps			
🚱 🥭 📋 🖸 🌍	0		FR

□ 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_MEGA Format.

M6: Alignment Explorer	-	and the second se	_ . ×
Data Edit Search Alignment Web Sequencer Display	Help		
🗅 😂 🖬 📽 🗮 🌚 🎆 W 😏 💥 🐍	∽ 臨 🐰 💼 🗙 兴 物 🎒 🖣 🕨 👘		
DNA Sequences Translated Protein Sequences			
Species/Abbrv Group M	Igma		
1. Chryseobacterium indologenes HF678414	# Enregistrer sous		SCITTC - GAGATITICATCACATCGCIGIGIAGCIG
2. Chryseobacterium indologenes HF678415		- to Rechercher dans : Ruman	SCIIIC-GAGAIIIGCAICACAICGCIGIGIAGCIG
3. Stenotrophomonas maltophilia HF678416		· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	SETTICISES ATTECCTICECESETTICCAS
 Lactobacillus plantarum HF678421 	Organiser 🔻 Nouveau dossier		
5. Acinetobacter baumannii HF678428	 ✓ Favoris Bureau Emplacements re Bibliothèques Dossier système Bubliothèques Dossier système Bubliothèques Dossier système Dossie système Dossier sys	Enregistrer	
Site # /24 🐷 🖲 with 🗇 w/o Gaps			
📀 🥝 拱 🖸 📀 🔘			FR 🔺 🚓 🛱 🕩 12:08 25/05/2020

• Nommer le fichier MEGA et enregistrer.

m MEGA 6.06(6140226)	- 0 ×
File Analysis Help	
王 · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	
White Sequence Data Explorer	
Uda Doply Sarch Group Imiging Statistics nep Imiging Statistics nep Imiging Statistics nep Imiging Statistics n	
Deta	
1/1009 Highlighted: None Data	
8 D C P I C C D	
First Time User? Tutorial Examples Citation Report a Bug Updates? MEGA Links Toolbar Preferences	
MELGA release #5144/2/b	Mustapha.meg

• Enfin, ouvrir le fichier MEGA et visualiser votre alignement



2. La matrice de distances : Marix Ditances Explorer4

· Activer le programme Matrix Distance Explorer et choisir l'action Compute Pairwise Distance.



· Confirmer l'utilisation des données actives : Yes.

MEGA 6.06(6140226)			
File Analysis Help			
Alian Data Models Distance Diversity Diversity User Tree	Ancestors Selection Bates	Clocks Diagnose	
	Mio: Analysis Preferences		
	Options Summary		
	Option	Selection	
	Analysis	Distance Estimation	
	Scope	Pairs of taxa	
	Estimate Variance		
	Variance Estimation Method	None	
	No. of Bootstrap Replications	Not Applicable	L S
	Substitution Model		
	Substitutions Type	Nucleotide	
	Model/Method	Maximum Composite Likelihood	
	Substitutions to Include	d: Transitions + Transversions	
	Rates and Patterns		
	Rates among Sites	Uniform rates	
	Gamma Parameter	Not Applicable	
	Pattern among Lineages	Same (Homogeneous)	
	Data Subset to Use		
	Gaps/Missing Data Treatment	Complete deletion	
	Site Coverage Cutoff (%)	Not Applicable	
	? Help	Compute X Cancel	
	U	A	
		វ	
🍪 📄 📄 🖬 🕲	🧼 🗸 🎸	·	
First Time User? Tutorial Examples Citation Report a Bug Update MEGA release #6140226	s? MEGA Links Toolbar	Preterences	Mustanha man
	đ	State of the local division of the	FR A C C V 275 PR

· Cliquer sur Compute pour lancer la matrice de distances.

W M6: Pairwise Distances (C:\Users\boubendir\Desktop\Mustapha.meg)	
File Display Average Caption Help	
1 2 3 4 5	
1. Chryseobacterium indologenes HF678414	
2. Chryseobacterium indologenes HF678415 0.003	
3. Stenotrophomonas maltophilia HE678416 0.328 0.323	
4. Lactobadilus plantarum HF678421 0.418 0.413 0.309	
5. Acinetobacter baumannii HF678428 0.533 0.527 0.347 0.395	
11.51 (Chryseobacterium indologenes HF678414-Acinetobacter baumannii HF678428) / Nucleotide: Maximum Composite Likelihood	
	FR 🔺 🚜 🛱 🌗 12:26 25/05/2020

- \Box Enfin, vous obtenez la matrice de distances.
- 3. La topologie de l'arbre phylogénétique

m MEGA 6.06(6140226)	- 0 X
File Analysis Help	
E IA 22 Align Data Models Distance Diversity <u>Phylogeny</u> User Tree Ancestors Selection Rates Cocks Diagnose	
Noir Calk Universe Univ	
🛟 📚 📂 🗁 🖬 📽 🐼 🧨 🌿 🎂 First Time User? Tutorial Examples Citation Report & Bug Updates? MEGA Links Toolbar Preferences	
MEGA release #6140226	Mustapha.meg
🛞 🤌 📋 🖸 🌻 🚺 👭	») 12:38 25/05/2020

· Activer le programme Tree Explorer et sélectionner la méthode de construction de

l'arbre NJ ou autres.

MEGA 6.06(6140226)	-	and the second sec		o x
File Analysis Help				
	🕺 🗸 🦝 🚬 🔛	. 0 . † .		
Align Data Models Distance Diversity Phylogeny User Tree A	ncestors Selection Rates	Clocks Diagnose		
	M6: Analysis Preferences	- 0		
	Options Summary			
	Option	Selection		
	Analysis	Phylogeny Reconstruction		
	Scope	All Selected Taxa		
1	Statistical Method	Neighbor-joining		
	Phylogeny Test			
	Test of Phylogeny	Bootstrap method		
	No. of Bootstrap Replications	500		
	Substitution Model			
	Substitutions Type	Nucleotide		
	Model/Method	Maximum Composite Likelihood		
	Substitutions to Include	d: Transitions + Transversions		
	Rates and Patterns			
	Rates among Sites	Uniform rates		
	Gamma Parameter	Not Applicable		
	Pattern among Lineages	Same (Homogeneous)		
	Gans/Missing Data Treatment	Complete deletion		
	Site Coverage Cutoff (%)	Not Applicable		
	7 Help	Compute Sancel		
		——————————————————————————————————————		
		۲ ۲		
🚯 🕒 💣 🖂 🖬 🕅	🙆 y	6		
First Time User? Tutorial Examples Citation Report a Bug Updates?	MEGA Links Toolbar	Preferences		
MEGA release #6140226			1	Mustapha.meg
📀 🖉 📜 🖸 🦻 👭		A STORE OF COMPANY	FR 🔺 🚜 📴 🌗	12:40 25/05/2020

• Lancer la construction avec le test bootstrap.

