

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

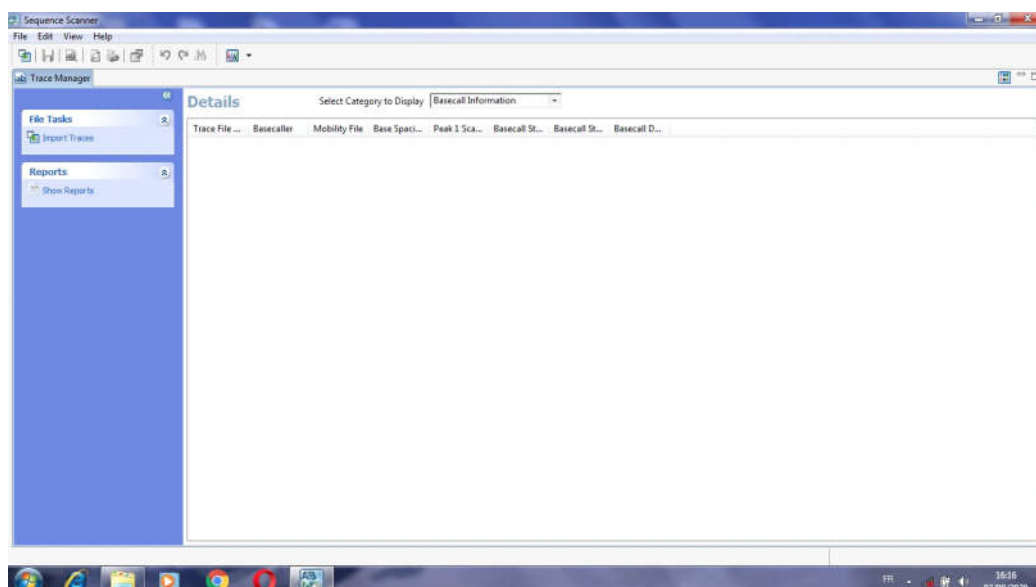
- La stabilité des extrémités du gène permet la synthèse d'amorces universelles.
- La grande base de données disponible sur internet utile pour la comparaison.
- C'est un gène universel présent chez tous les êtres vivants.
- Il contient des régions stables à vitesse d'évolution faible et des régions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

Les alternatives du gène ARNr16S dans l'identification moléculaire ?

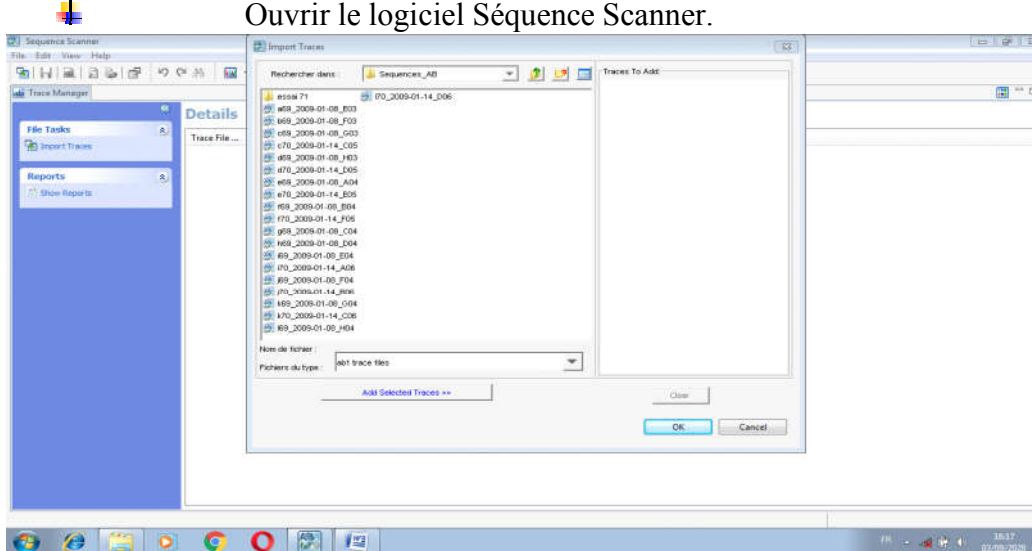
- Gène tuf
- Gènes codants pour: Enzyme, toxine, récepteur, hormone.

Le rôle du logiciel Séquence Scanner

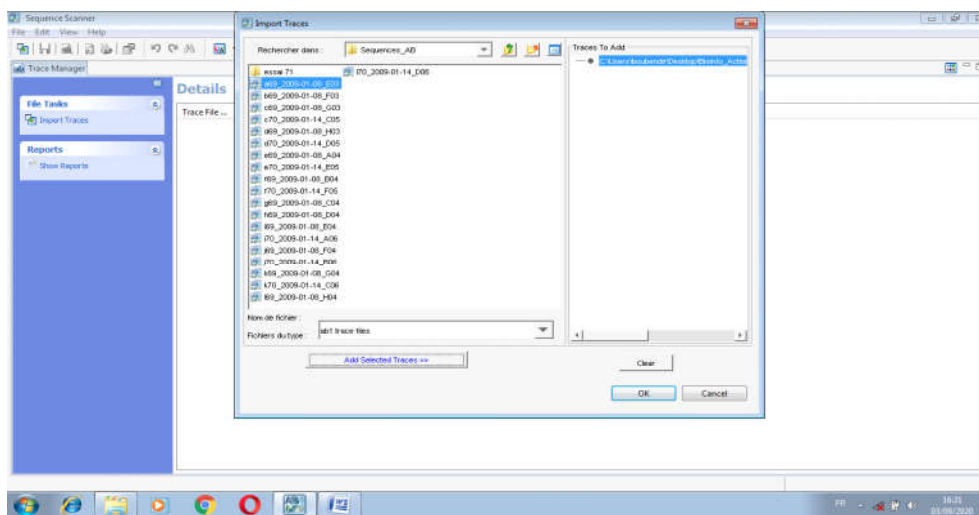
Le logiciel Séquence Scanner (Applied Biosystems) permet de lire et visualiser les fichiers AB du séquenceur, sa manipulation s'effectue selon les étapes suivantes :



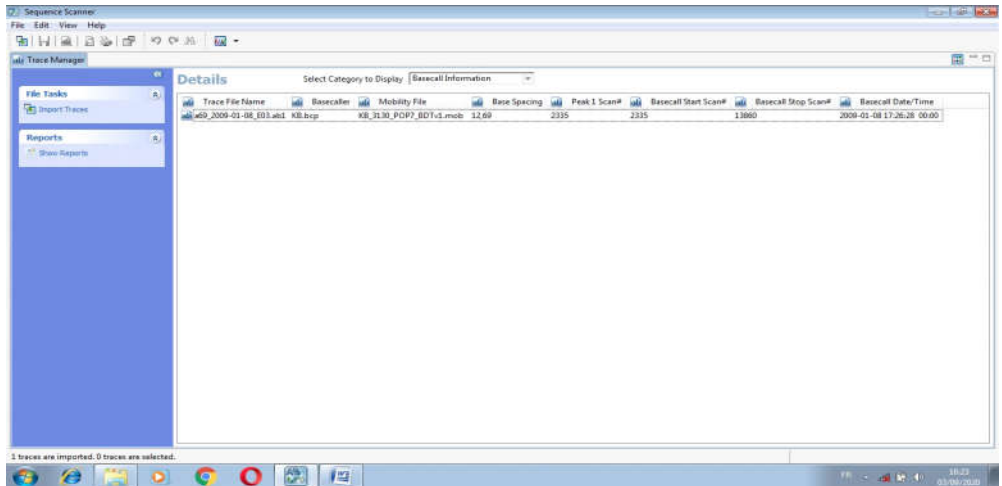
Ouvrir le logiciel Séquence Scanner.



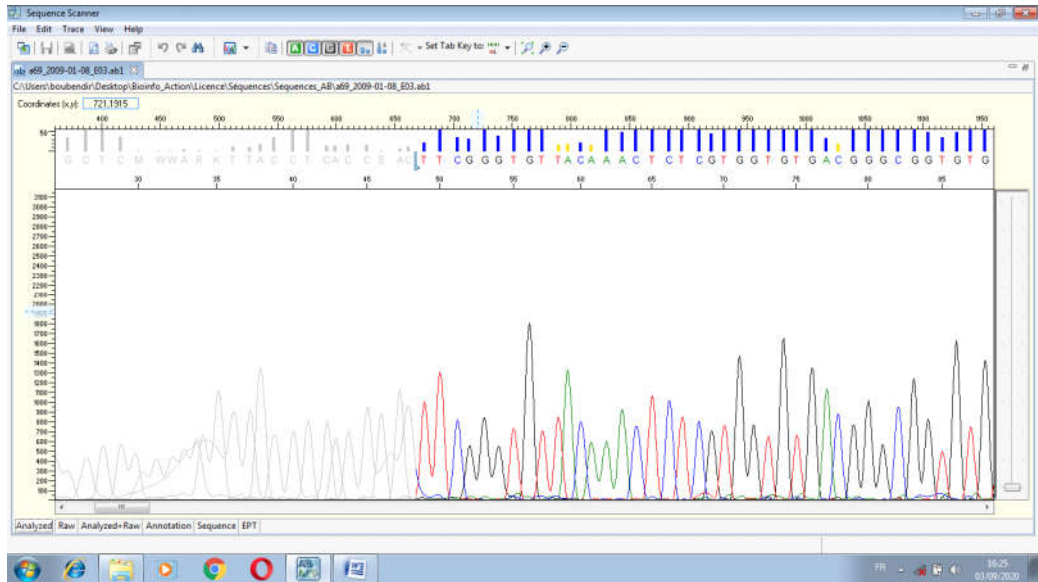
☑ Cliquer sur Import Traces (en haut à gauche) pour chercher les fichiers AB sur votre PC.



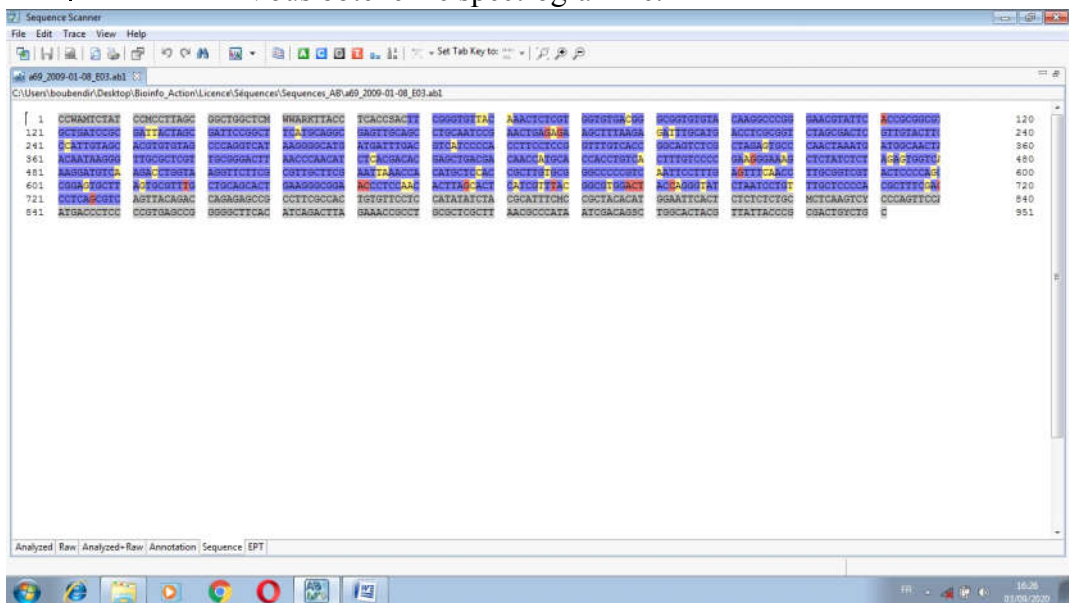
☑ Sélectionner un fichier AB et cliquer sur Add Selected Traces (en bas) pour l'introduire dans le logiciel, ensuite cliquer sur OK.



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



Vous obtenez le spectrogramme.





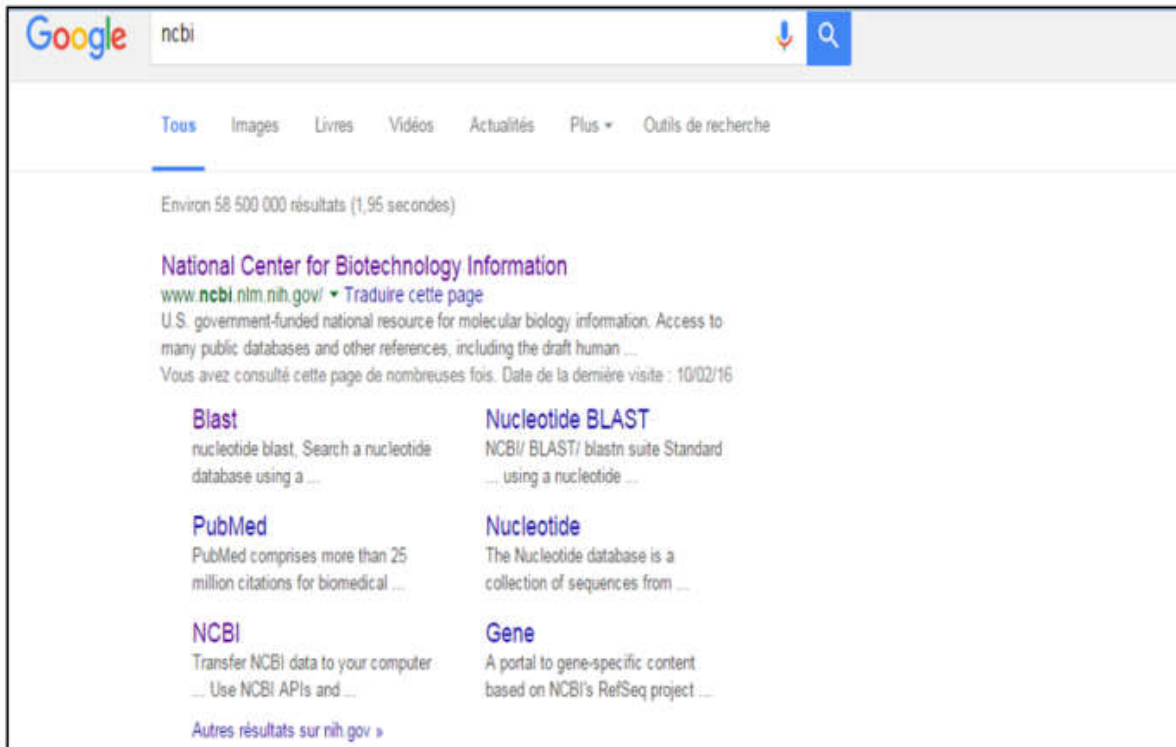
Cliquer sur Sequence pour visualiser les détails de votre ADN.

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

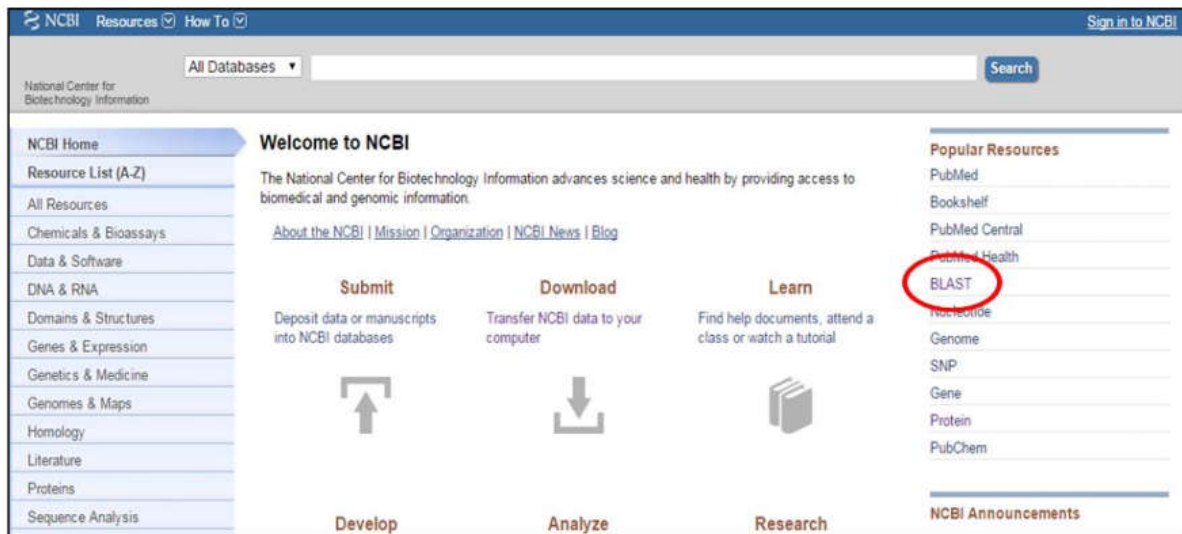
Etapas du travail

- 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 blastn 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 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](#) [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#)

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

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 GCGATTACTAGCGATTCCAGCTTCATAGAGTCSAGTTGSCAGACTCCAATCCGAACCTG 60
 Subject 719 TGC GCGATTACTAGCGATTCCAGCTTCATAGAGTCSAGTTGSCAGACTCCAATCCGAACCTG 660

Query 61 AGACCGGCTTCGAGATTGTCATCAGTCGCTGTGTAGCTGCCCTCTGTACCGGCCATTG 120
 Subject 659 AGACCGGCTTCGAGATTGTCATCAGTCGCTGTGTAGCTGCCCTCTGTACCGGCCATTG 600

Query 121 TATTACGTGTGTGSCCAAGCGCTAAGGCGCTGATGATTTGACGTCACTCCCACTTCC 180
 Subject 599 TATTACGTGTGTGSCCAAGCGCTAAGGCGCTGATGATTTGACGTCACTCCCACTTCC 540

Query 181 TCTCTACTTGCSTAGCGAGTCTCACTAGAGTCCCAACTTAATGATGCACTAGTGACA 240
 Subject 539 TCTCTACTTGCSTAGCGAGTCTCACTAGAGTCCCAACTTAATGATGCACTAGTGACA 480

Query 241 GGGGTTGCGCTGTTGCAGGACTTAACCTAACACCTCACGSCAGACTGACGCAACCA 300
 Subject 479 GGGGTTGCGCTGTTGCAGGACTTAACCTAACACCTCACGSCAGACTGACGCAACCA 420

Query 301 TGCAGCACCTTGAAAATGTCCGAAGAAAAGTCTATTTCTAAACCTGTGATTTCCCATTT 360
 Subject 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 diversite 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.

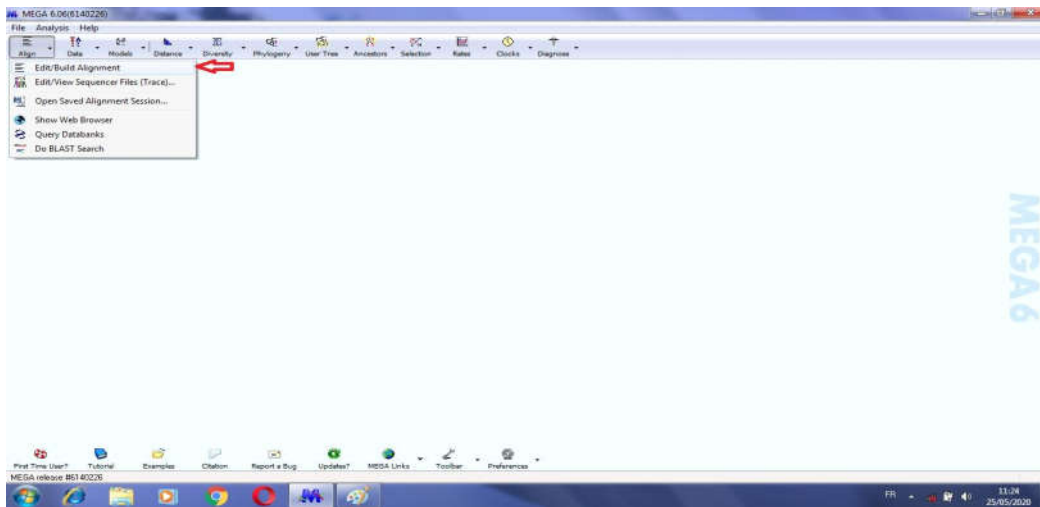
L'intérêt de la comparaison des séquences d'ADN dans l'Alignement Multiple

-Régions stables : comparaison des espèces éloignées.

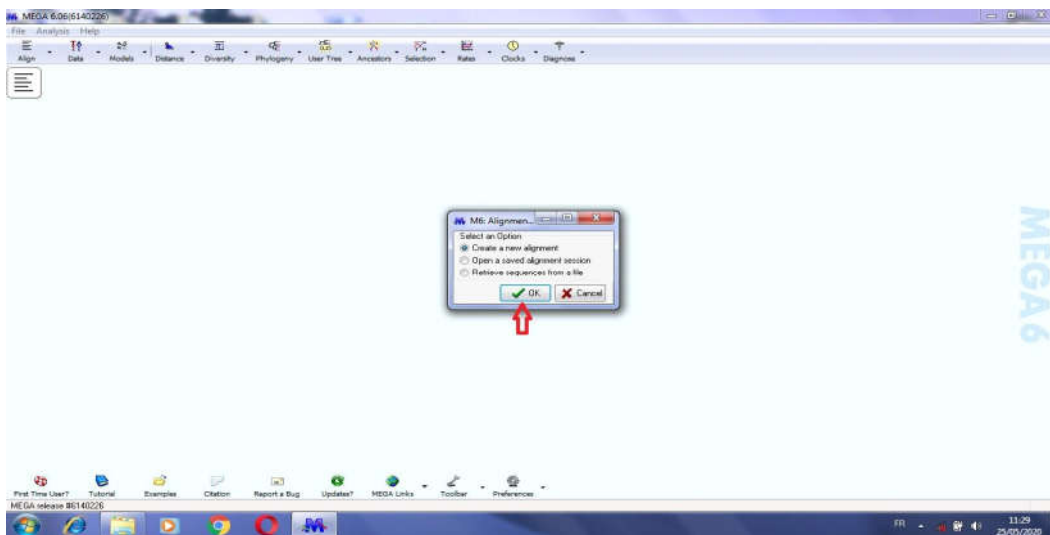
-Régions instables : comparaison des espèces proches.

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

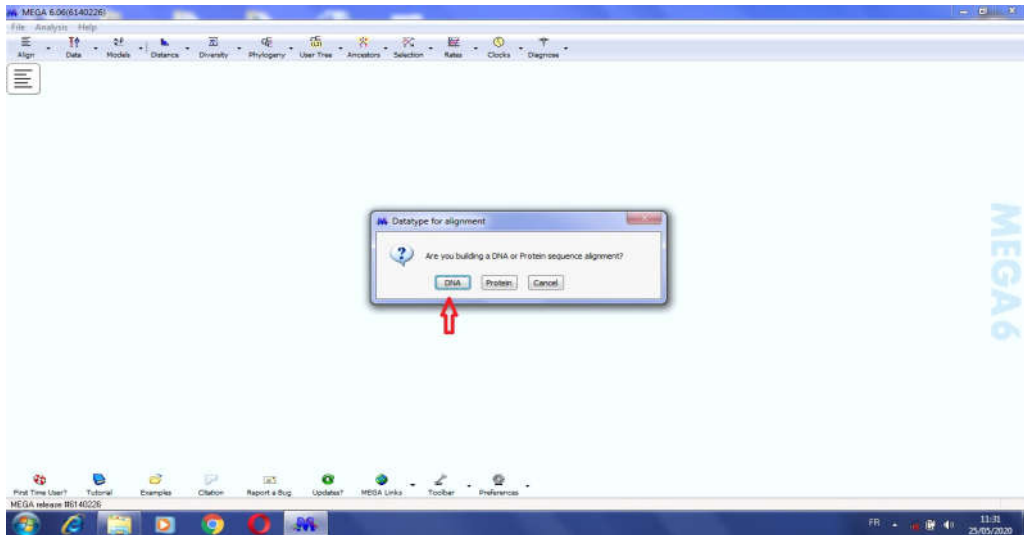
1. Alignement multiple : Alignment Explorer



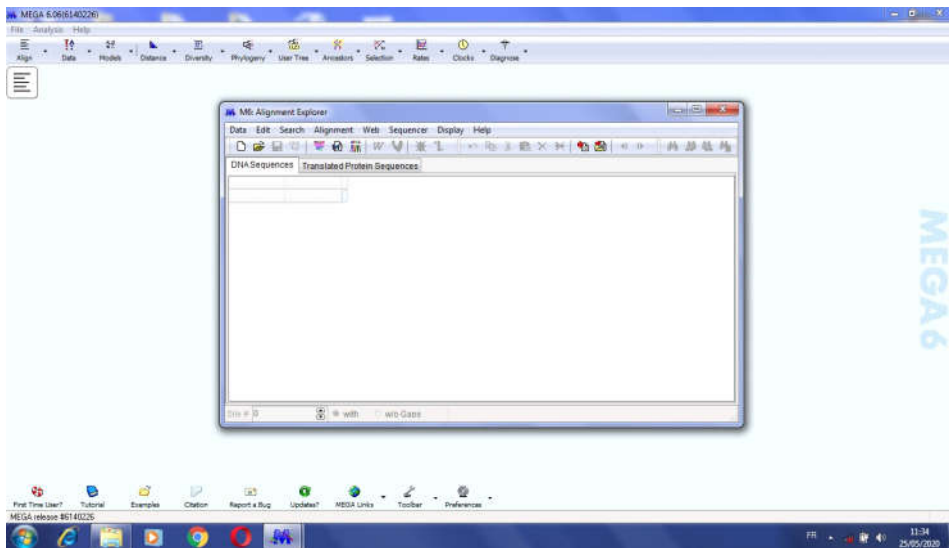
- Ouvrir le programme Alignment Explorer et cliquer sur Edit/Build Alignment.



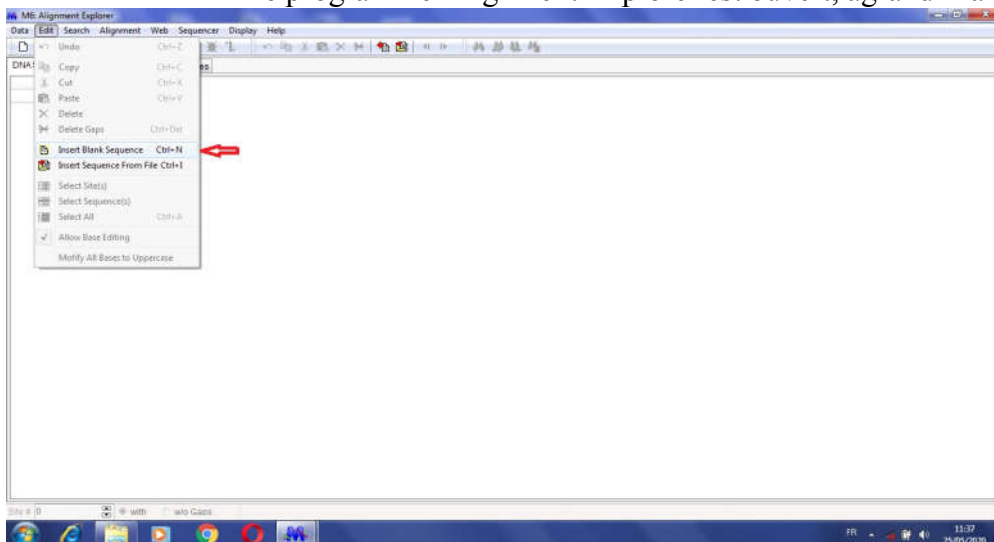
- Cliquer sur OK pour confirmer la création d'un nouveau alignement.



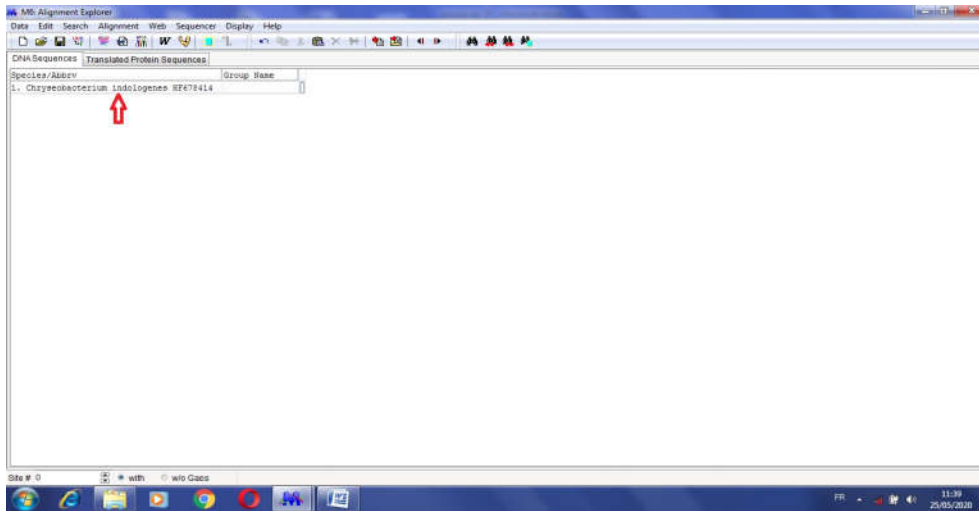
➤ Confirmer votre substrat d'analyse : ADN ou Protéine.



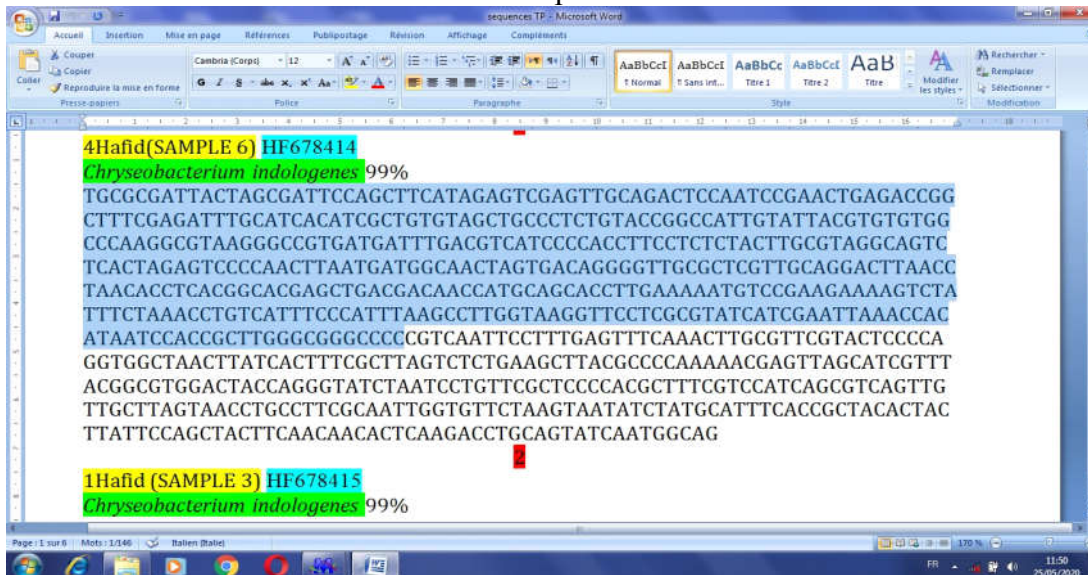
➤ Le programme Alignment Explorer est ouvert, agrandir la fenêtre.



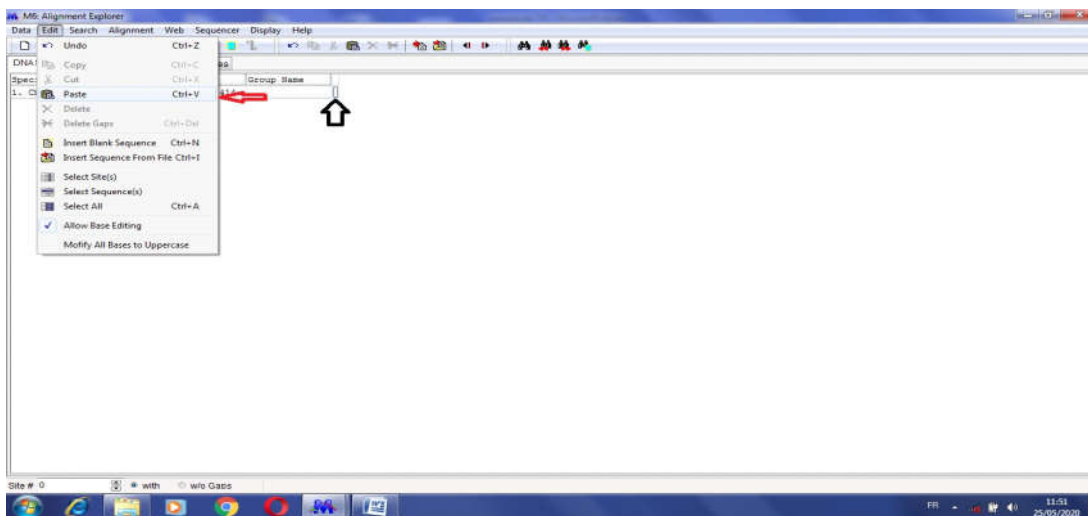
➤ Cliquer sur Edit_Insert Blank Sequence.



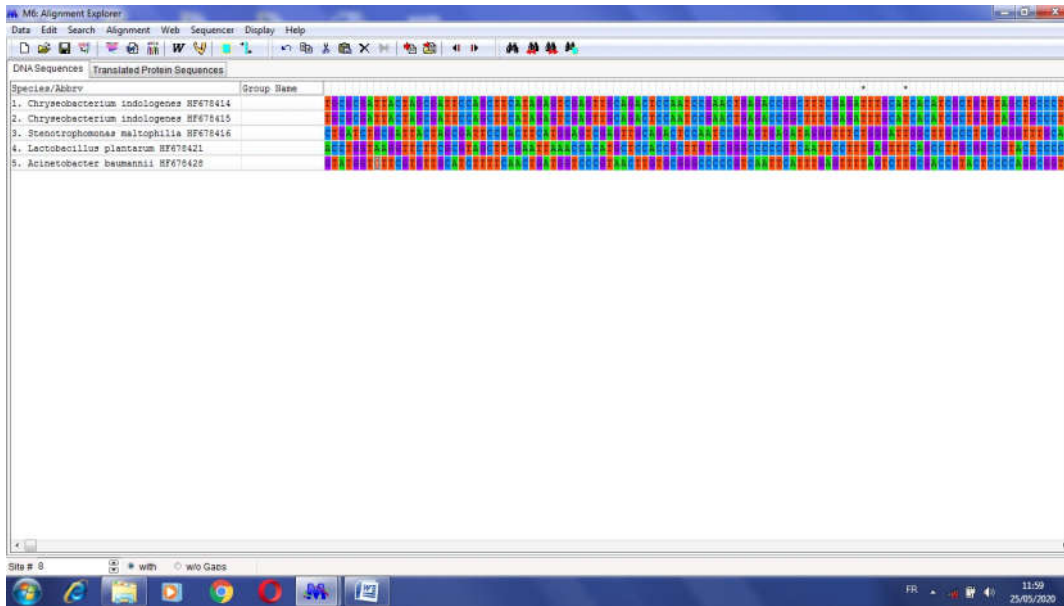
➤ Introduire le nom de l'espèce et son numéro d'accès sur Gene Bank.



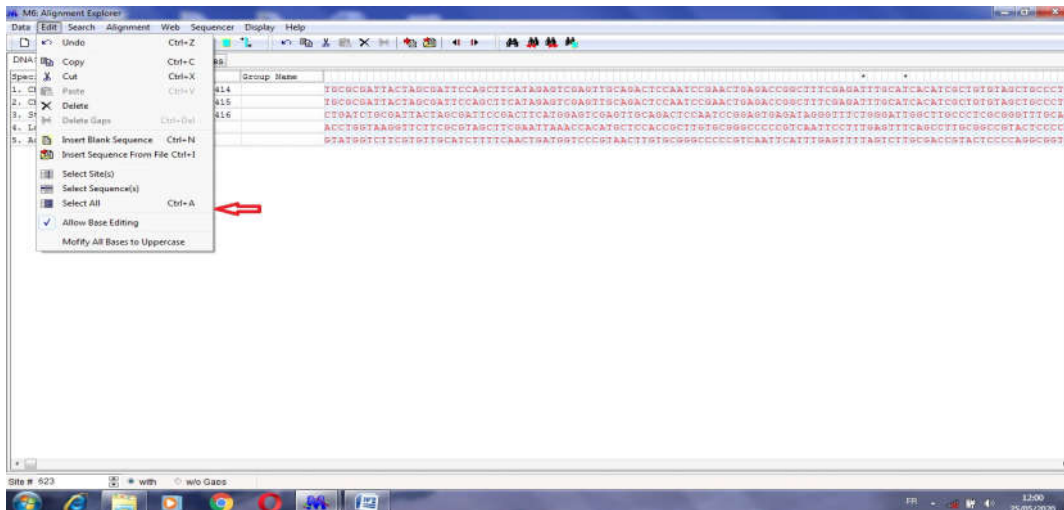
➤ Sélectionner et copier votre séquence à analyser (préparée au préalable).



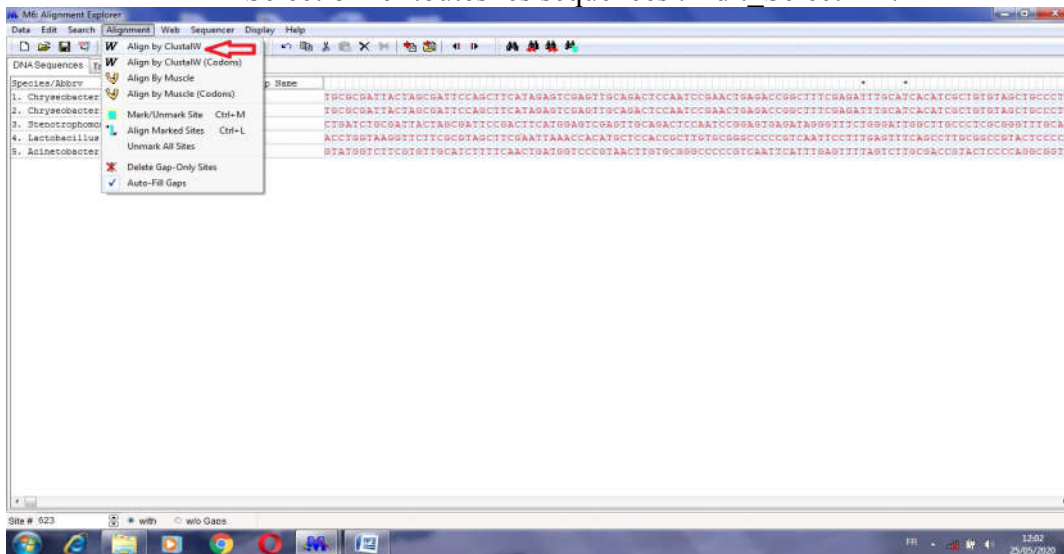
➤ Cliquer sur Edit_Paste pour insérer la séquence dans l'endroit précisé.



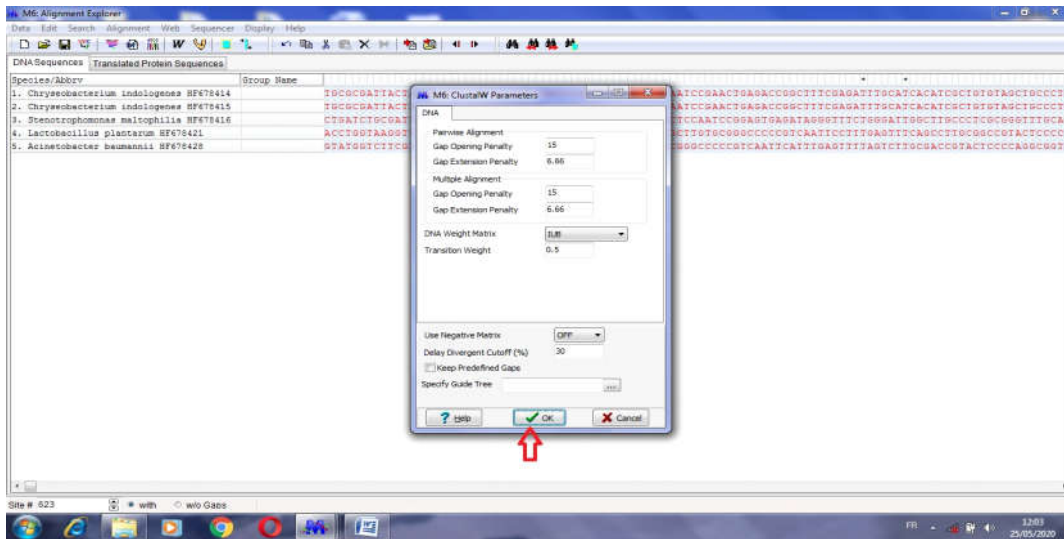
➤ Faire de même pour insérer les autres séquences.



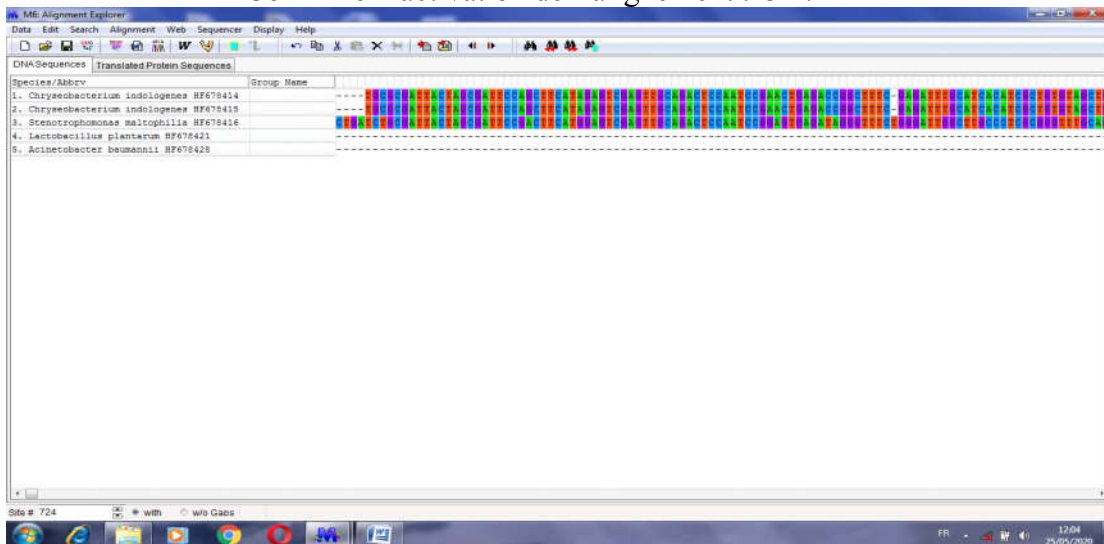
➤ Sélectionner toutes les séquences : Edit_Select All.



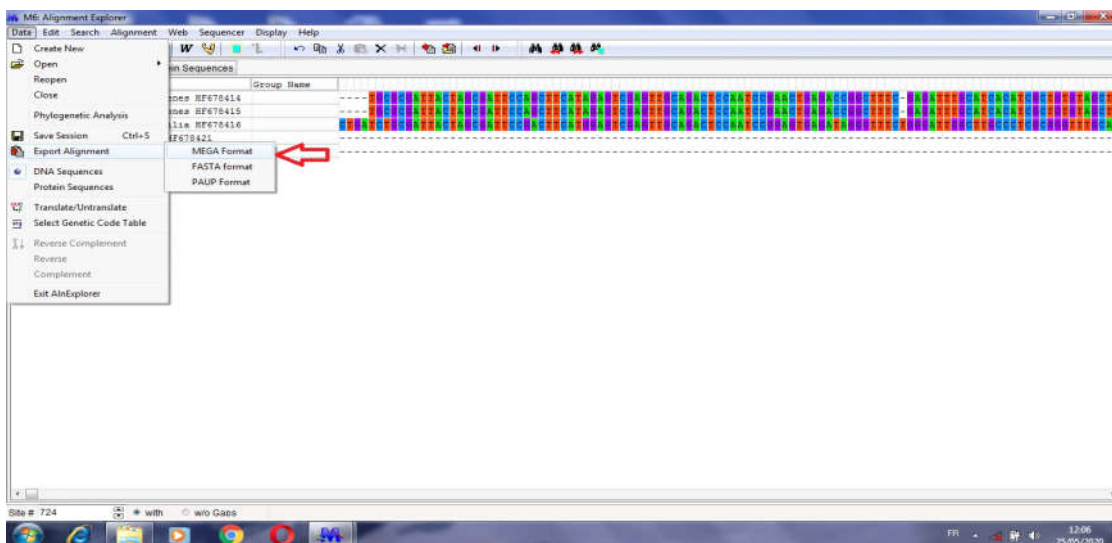
➤ Activer l'alignement : Alignment_Align by ClustalW.



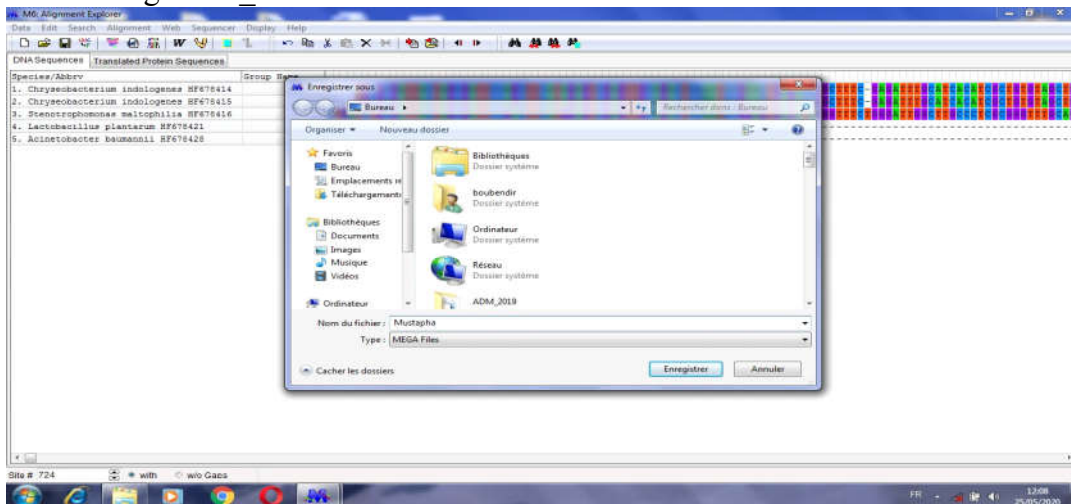
➤ Confirmer l'activation de l'alignement : OK.



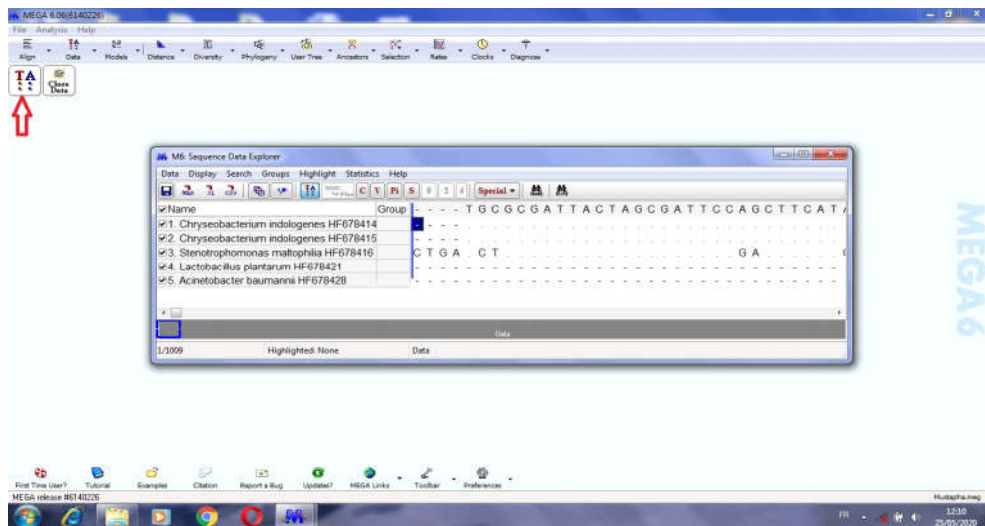
➤ L'apparition des GAP confirme la réalisation de l'alignement.



- Sauvegarder l'alignement sous format MEGA : Data_Export
Alignment_MEGAFormat.

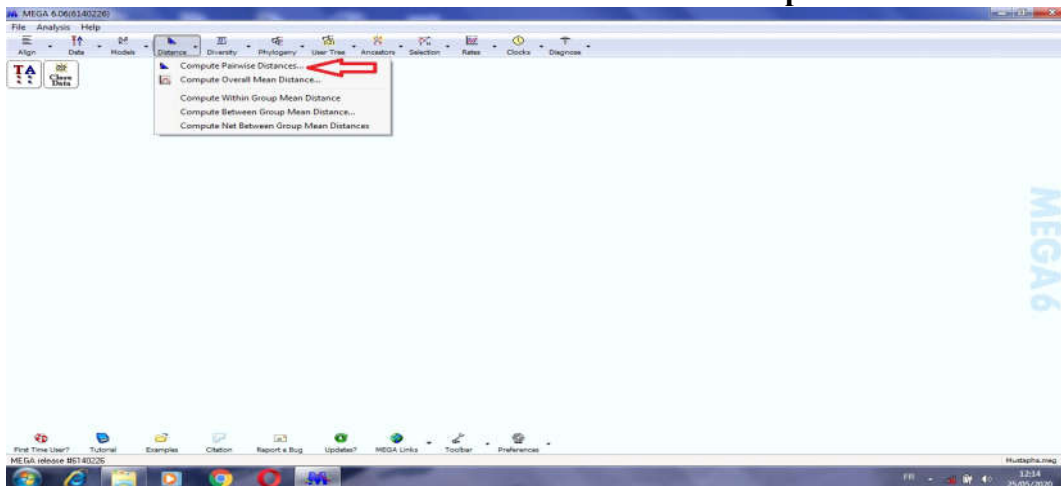


- Nommer le fichier MEGA et enregistrer.

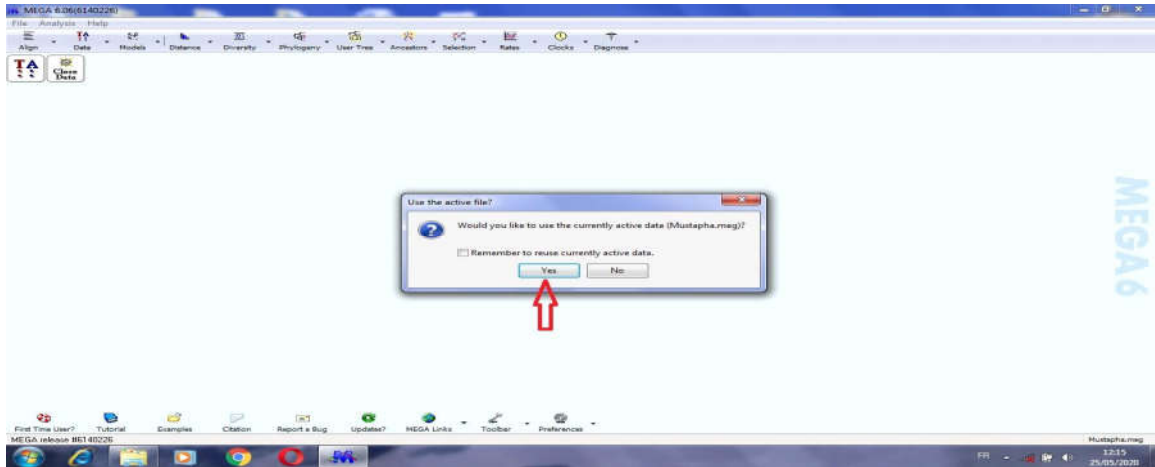


- Enfin, ouvrir le fichier MEGA et visualiser votre alignement.

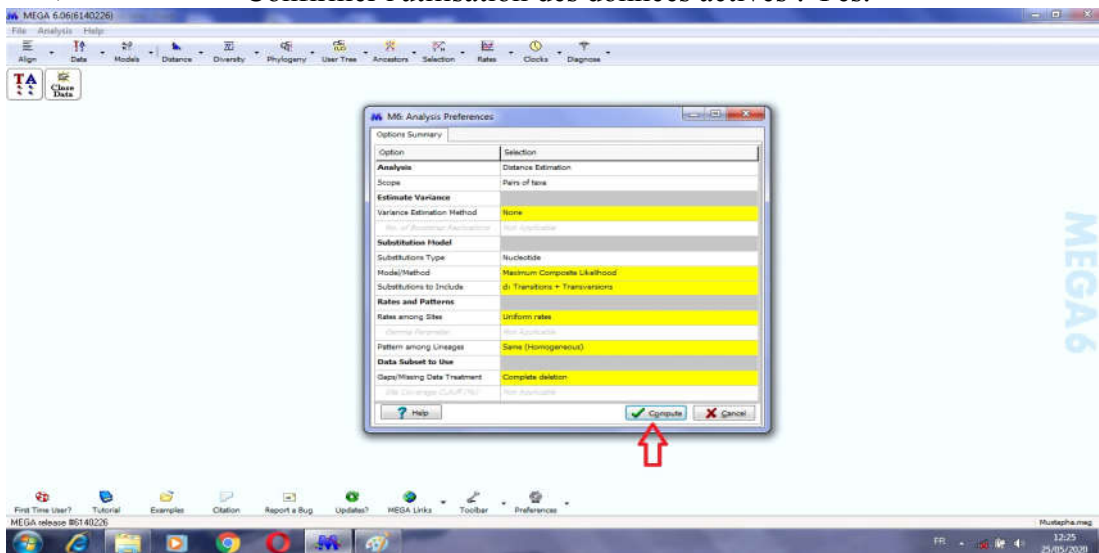
2. La matrice de distances : Marix Ditances Explorer



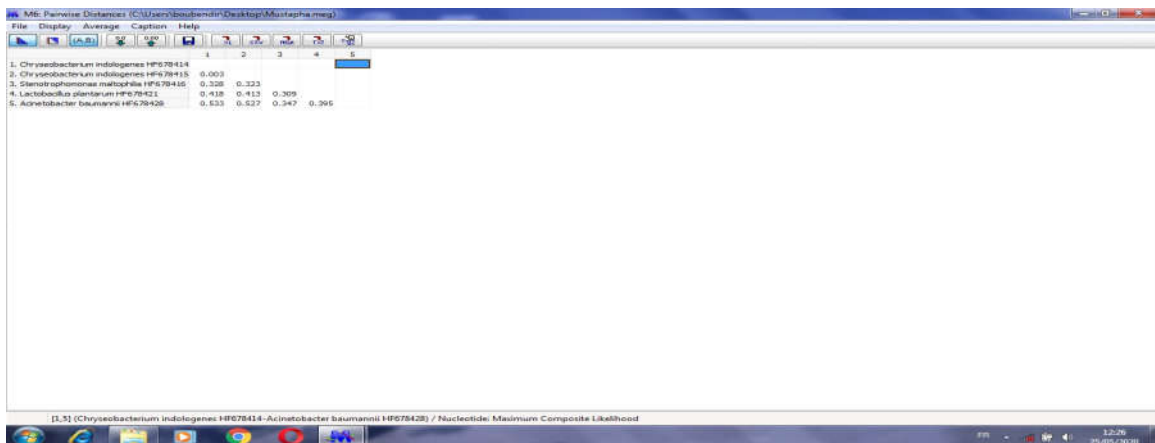
- Activer le programme Matrix Distance Explorer et choisir l'action ComputePairwise Distance.



- Confirmer l'utilisation des données actives : Yes.

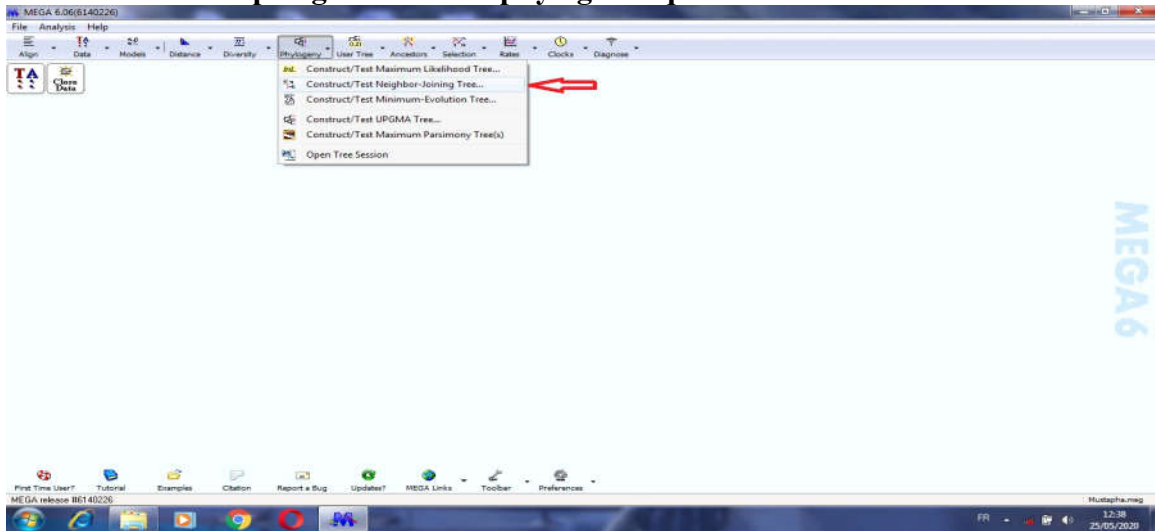


- Cliquer sur Compute pour lancer la matrice de distances.

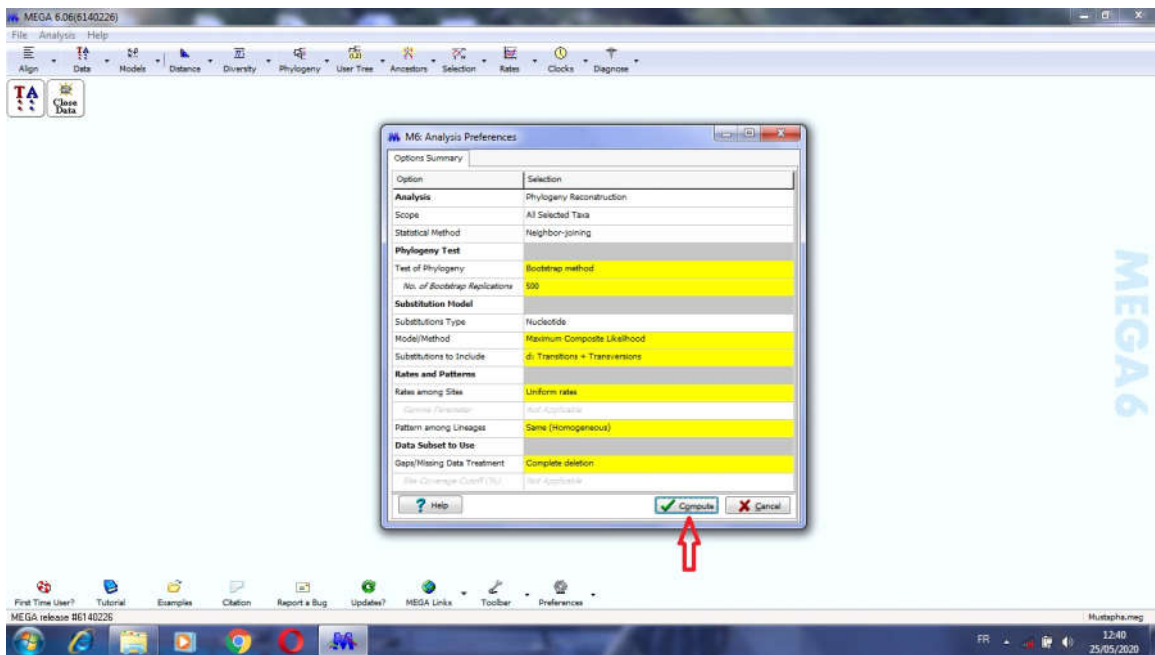


- Enfin, vous obtenez la matrice de distances.

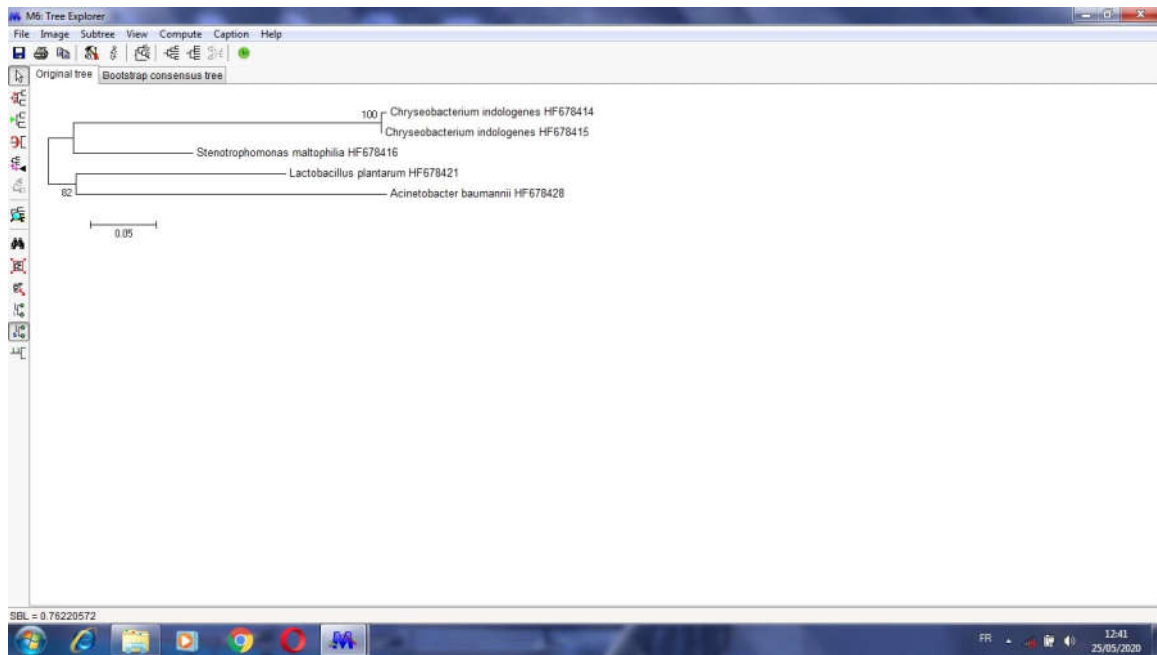
3. La topologie de l'arbre phylogénétique



- 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