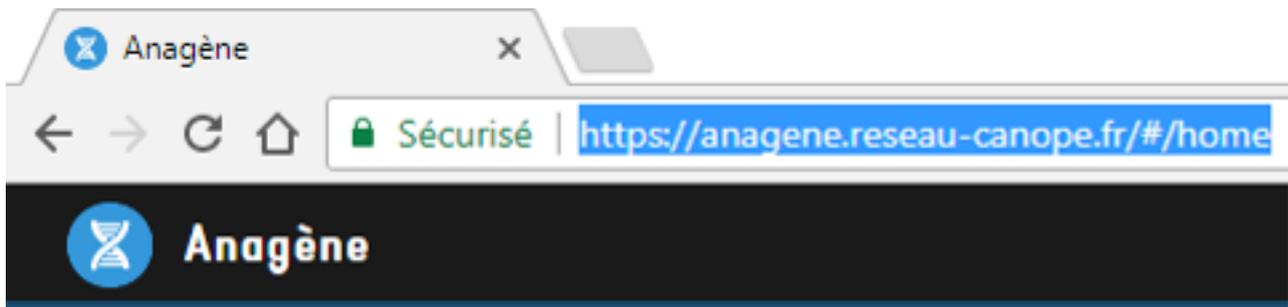


Fiche technique : utilisation d'Anagène en ligne



La nouvelle version du logiciel 'Anagène en ligne' permet de réaliser des TP de génétique dans des domaines aussi variés que la synthèse protéique, les comparaisons moléculaires d'ADN et de protéines, les constructions d'arbres phylogénétiques, les digestions de l'ADN par des enzymes de restriction, les observations de molécules en 3D, les Dotblots, etc.

L'application en ligne en cliquant sur le lien suivant :

<https://anagene.reseau-canope.fr/#/home>

Objectifs de la fiche :

Objectif 1 : se connecter sur une session

Objectif 2 : ouvrir une séquence issue de la banque de données

Objectif 3 : créer une séquence qui n'est pas dans la banque de données ; +++

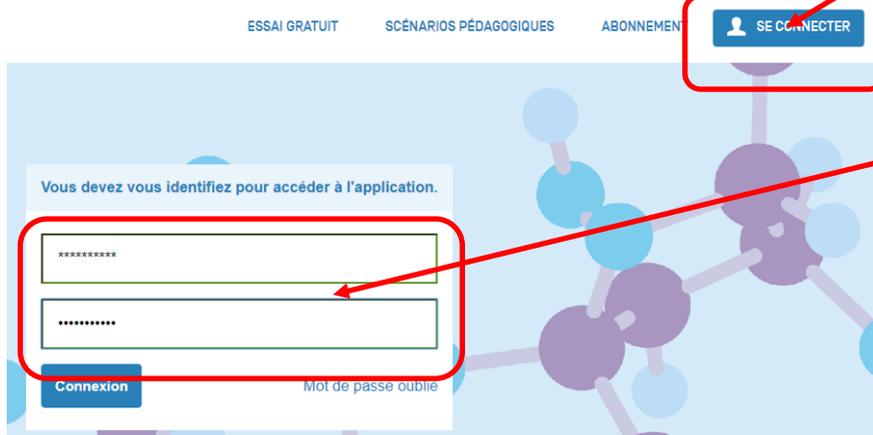
Objectif 4 : comparer des séquences (ADN ou PROTEINE)

Objectif 5 : convertir des séquences d'ADN/ARNm en ADN/ARNm/protéine

Objectif 6 : construire une classification phylogénétique

Objectif 7 : digérer de l'ADN avec des enzymes de restriction et générer des fragments de restriction

Objectif 1 : se connecter sur une session



Cliquer dans la barre de menu en haut sur « se connecter »

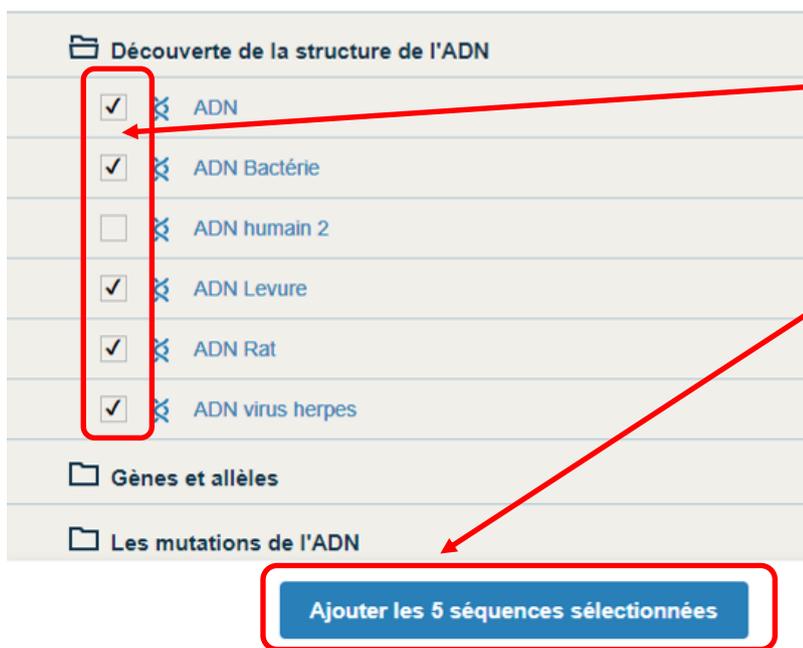
Renseigner :
votre identifiant
votre mot de passe

Objectif 2 : ouvrir une séquence issue de la banque de données



Pour ouvrir un fichier de molécules, déjà dans la banque, vous pouvez consulter les onglets :

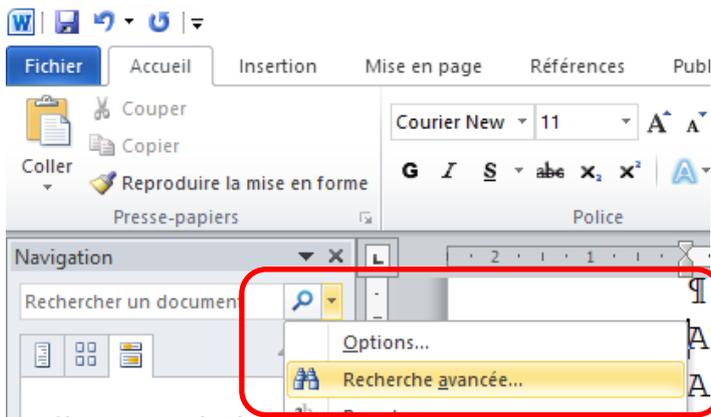
- Niveaux
- Catégories
- Mots-clés



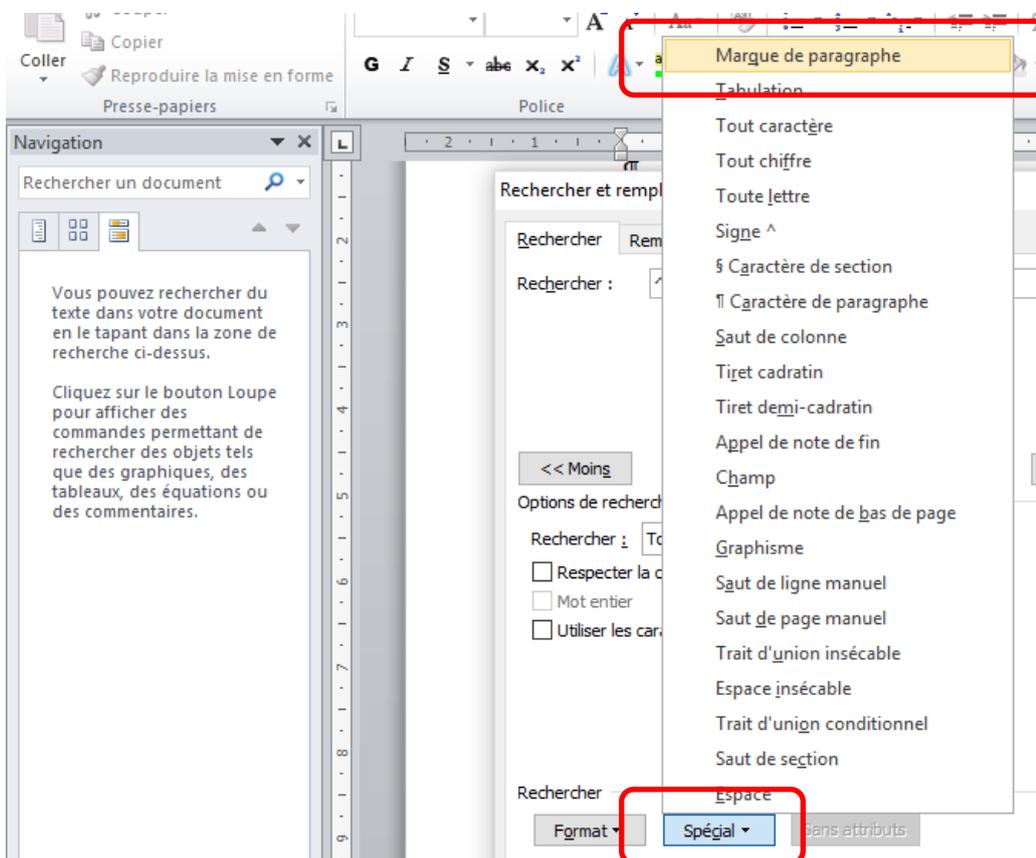
Sélectionner toutes les séquences désirées en les cochant.

Valider votre sélection en cliquant sur « ajouter les XXX séquences sélectionnées »

Puis activer la fonction « rechercher / remplacer » et dans le menu déroulant « recherche avancée ».



Dans l'option « spécial », sélectionner alors le caractère à remplacer, en l'occurrence ici « Marque de paragraphe ».



Puis choisir « remplacer par », rien, puisque vous souhaitez faire disparaître ce retour à la ligne. Enfin « remplacer tout » pour effectuer automatiquement et en une seule fois tous les changements contenus dans le texte.

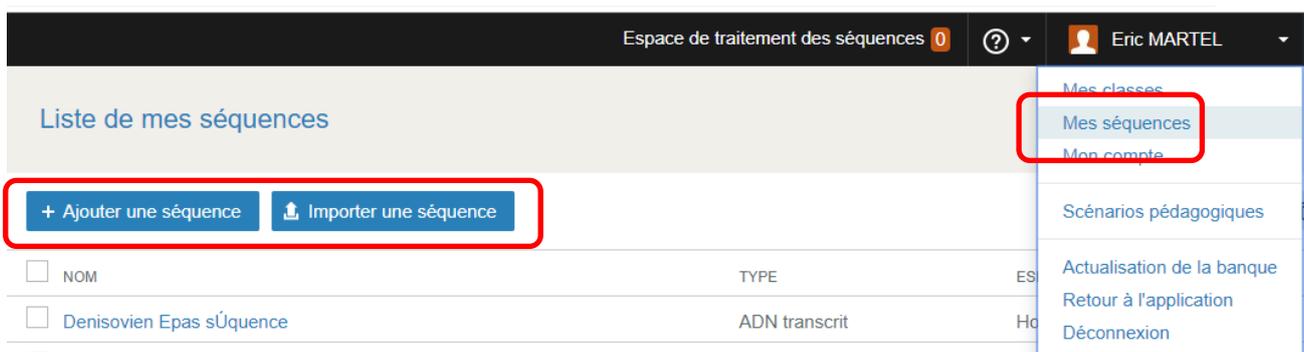


Comme vous pouvez les constater, tous les retours à la ligne ont désormais disparu !
 Vous pouvez désormais les copier coller dans Anagène.

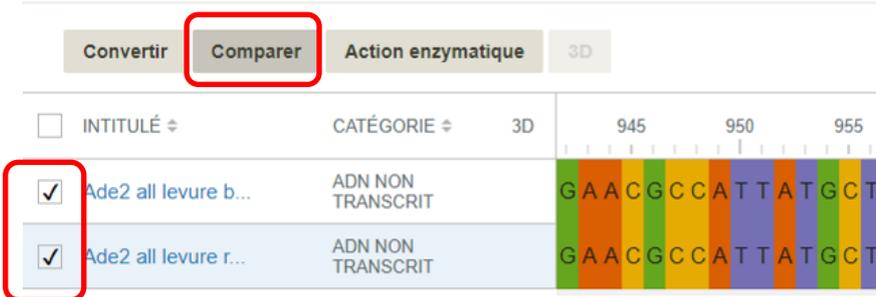
```

ATGCTTTGGTGGGAAGAAGTAGAGGACTGTTATGAAAGAGAAGATGTTCAAAAGAAAACATTCACAAAATG
GGTAAATGCACAATTTTCTAAGTTTGGGAAGCAGCATATTGAGAACCCTCTTCAGTGACCTACAGGATGGGA
GGCGCCTCCTAGACCTCCTCGAAGGCCTGACAGGGCAAAAACCTGCCAAAAGAAAAGGATCCACAAGAGTT
CATGCCCTGAACAATGTCAACAAGGCACTGCGGGTTTTGCAGAACAATAATGTTGATTTAGTGAATATTGG
AAGTACTGACATCGTAGATGGAAATCATAAACTGACTCTTGGTTTTGATTTGGAATATAATCCTCCACTGGC
AGGTCAAAAATGTAATGAAAAATATCATGGCTGGATTGCAACAAACCAACAGTGAAAAGATTCTCCTGAGC
TGGGTCCGACAATCAACTCGTAATTATCCACAGTTAATGTAATCAACTTCACCACCAGCTGGTCTGATGG
CCTGGCTTTGAATGCTCTCATCCATAGTCATAGGCCAGACCTATTTGACTGGAATAGTGTGGTTTGCCAGC
AGTCAGCCACACAACGACTGGAACATGCATTCAACATCGCCAGATATCAATTAGGCATAGAGAACTACTC
GATCCTGAAGATGTTGATACCACCTATCCAGATAAGAAGTCCATCTTAATGTACATCACATCACTCTTCCA
AGTTTTGCCTCAACAAGTGAGCATTGAAGCCATCCAGGAAGTGGAAATGTTGCCAAGGCCACCTAAAGTGA
  
```

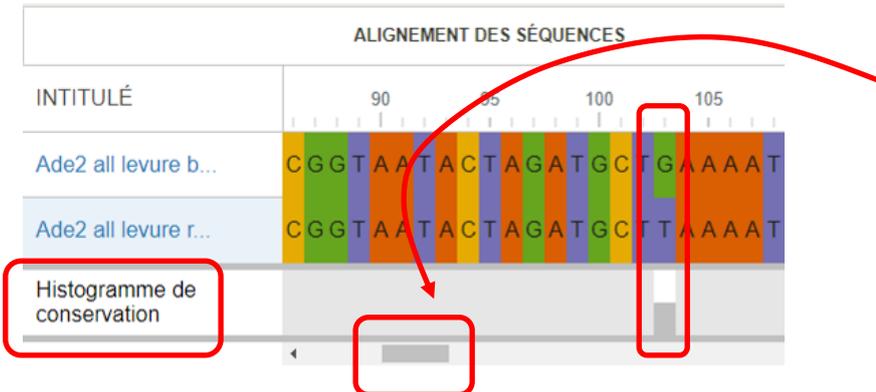
En tant qu'administrateur et non plus élève, il est possible d'enregistrer dans la base personnelle de nouvelles séquences.



Objectif 4 : comparer des séquences (ADN ou PROTEINE)



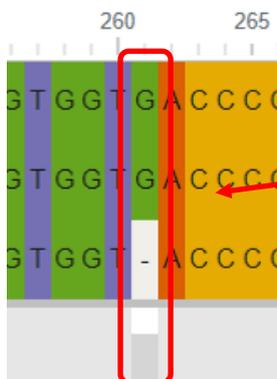
- Cocher les séquences à comparer
- Cliquer sur la fonction « comparer »



Faire défiler la comparaison pour rechercher les différences qui sont facilement repérables par :

- La couleur
- L'histogramme de conservation

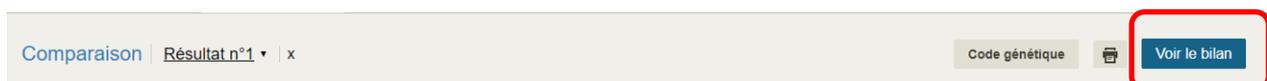
Dans cet exemple, un changement (= substitution) en position 103 avec un T à la place d'un G



!!! Attention !!! Dans cet autre exemple, la différence entre les 3 séquences est plus lourde. En effet, il manque pour la ligne 3 (=délétion) en position 261, un nucléotide à « G », facilement repérables par :

- La couleur & le tiret
- L'histogramme de conservation

Afin d'obtenir une comparaison dans son ensemble et en particulier le % de différences entre les séquences, cliquer sur « voir le bilan » et une fenêtre s'affiche avec tous les renseignements.



Bilan complet de la comparaison [X]

Séquence de référence : Ade2 all levure blanche

Séquence
longueur : 1716 bases (1716 après comparaison)

Ade2 all levure rouge

Séquence
longueur : 1716 bases (1716 après comparaison)

→ 1 base différente de la séquence de référence Ade2 all levure blanche, soit 99.9% d'identité soit 0.1% de différence

Vous pouvez choisir LA SEQUENCE qui sert de référence.

Le bilan chiffré s'affiche en bas avec en particulier :

- Le nombre de différence dans cette comparaison
- Le même résultat mais exprimé en % de différences

Dans cet exemple, 1 seule différence sur 1716 positions ce qui représente 0,1% de différence.

!!! ATTENTION !!! DANS LE CAS DES PROTEINES NE VOUS TROMPEZ PAS D'ECHELLE DE NUMEROTATION !!!

INTITULÉ

				5			
Ade2 all levur...	Met	Asp	Ser	Arg	Thr	Val	Gly
Ade2 all levur...	Met	Asp	Ser	Arg	Thr	Val	Gly

INTITULÉ

		5	10	15	20		
Ade2 all levur...	Met	Asp	Ser	Arg	Thr	Val	Gly
Ade2 all levur...	Met	Asp	Ser	Arg	Thr	Val	Gly

La comparaison de protéine doit OBLIGATOIREMENT être accompagnée d'un changement de numérotation d'échelle

'Asp' n'est pas le 5^{ème} acide aminé mais bien le 2^{ème}.

Pour changer d'échelle, il suffit de cliquer sur cette dernière.

Objectif 5 : convertir des séquences d'ADN/ARNm en ADN/ARNm/protéine

The screenshot shows a software interface with a top navigation bar containing buttons for 'Convertir', 'Comparer', 'Action enzymatique', and '3D'. Below this is a table with columns for 'INTITULÉ', 'CATÉGORIE', and '3D'. One row is selected, showing 'Ade2 all levure b...' under 'INTITULÉ', 'ADN NON TRANSCRIT' under 'CATÉGORIE', and a sequence 'ATGGATTCTA' under '3D'. A red box highlights the 'Convertir' button, and another red box highlights the selected row. Red arrows point from these boxes to the explanatory text on the right.

!!! Attention !!! Avant d'effectuer cette opération, vous devez clairement savoir si votre séquence de nucléotides à convertir est au choix :

- Un ADN brin transcrit
- Un ADN brin non transcrit
- Un ARNm

Sélectionner votre séquence, puis cliquer sur « Convertir ».

Paramètres de conversion

The screenshot shows a dialog box titled 'Paramètres de conversion'. It has a dropdown menu for 'Je veux convertir' set to 'ADN non transcrit'. Below it, under 'En:', there are three radio button options: 'brin transcrit de l'ADN', 'ARN messenger' (which is selected), and 'peptidique'. There is also a link '+ Afficher les options'. At the bottom, there is a blue button labeled 'Démarrer la conversion'. Red boxes highlight the 'Je veux convertir' dropdown, the 'En:' options, and the 'Démarrer la conversion' button. Red arrows point from these boxes to the explanatory text on the right.

Selon que votre séquence à convertir est un ADN brin transcrit, non transcrit ou un ARNm, choisir l'option pertinente :

- Brin transcrit
- ARNm
- Peptidique = PROTEINE

Puis lancer en cliquant sur « démarrer la conversion »

The screenshot shows the same software interface as before, but now with a second row added below the first. This new row is highlighted with a red box and shows the converted sequence 'AAGGAUCGUC' under the '3D' column. The original sequence 'AAGGATCGTC' is still visible in the row above. The 'Convertir' button is now disabled.

La conversion apparaît alors en dessous de la séquence initiale.

Objectif 6 : Construire une classification phylogénétique

Cette option d'Anagène, permet de créer une classification phylogénétique afin de répondre à la question évolutive suivante : « qui est plus proche de qui ? » et non plus « qui descend de qui ? ». Dans cette classification phylogénétique, des molécules (ADN ou protéines) sont comparées entre elles. Chaque position de la molécule étudiée (un acide aminé s'il s'agit d'une protéine ; un nucléotide s'il s'agit d'une protéine) est regardée pour des espèces différentes.

- Un changement est comptabilisé comme une différence.
- Plus le % de différences est faible entre 2 espèces et plus ces espèces sont proches au regard de l'évolution.

ALIGNEMENT DES SÉQUENCES

ARBRE PHYLOGÉNÉTIQUE

L'alignement par paires montre que :

- Ops bleu-SW alouate et Ops bleu-SW gorille ont 8.3 % de différences
- Ops bleu-SW alouate et Ops bleu-SW homme ont 8.0 % de différences
- Ops bleu-SW alouate et Ops bleu-SW macaque ont 6.9 % de différences
- Ops bleu-SW gorille et Ops bleu-SW homme ont 0.3 % de différences
- Ops bleu-SW gorille et Ops bleu-SW macaque ont 5.7 % de différences
- Ops bleu-SW homme et Ops bleu-SW macaque ont 5.4 % de différences

Il faut au préalable avoir comparé plusieurs séquences d'une même molécule chez plusieurs espèces en suivant l'objectif 4.

Cliquer sur l'onglet « arbre phylogénétique » qui permet d'afficher :

- 1 REMPLISSAGE
2 RAPPROCHEMENT
3
- Matrice des distances**
Remplissez la matrice avec les valeurs ci-dessus
- TOUTES les comparaisons en % de différences
 - La matrice de comparaison à compléter.

	Ops bleu-SW alouate	Ops bleu-SW gorille	Ops bleu-SW homme	Ops bleu-SW macaque
Ops bleu-SW alouate	0%	Non renseigné	Non renseigné	Non renseigné
Ops bleu-SW gorille	Non renseigné	0%	Non renseigné	Non renseigné
Ops bleu-SW homme	Non renseigné	Non renseigné	0%	Non renseigné
Ops bleu-SW macaque	Non renseigné	Non renseigné	Non renseigné	0%

Etape 1 : compléter la matrice des distances

Matrice des distances

Remplissez la matrice avec les valeurs ci-dessus

	Ops bleu-SW alouate	Ops bleu-SW gorille	Ops bleu-SW homme	Ops bleu-SW macaque
Ops bleu-SW alouate	0%	8.3	8	6.9
Ops bleu-SW gorille	Non renseigné	0%	0.3	5.7
Ops bleu-SW homme	Non renseigné	Non renseigné	0%	5.4
Ops bleu-SW macaque	Non renseigné	Non renseigné	Non renseigné	0%

Valider la matrice

A l'aide des valeurs de comparaisons 2 à 2 des espèces, compléter la matrice des distances.

Valider la matrice

Etape 2 : Rapprocher les 2 espèces qui partagent le moins de différences

Matrice des distances

Faites un rapprochement en sélectionnant le pourcentage de différence le plus faible

	Ops bleu-SW alouate	Ops bleu-SW gorille	Ops bleu-SW homme	Ops bleu-SW macaque
Ops bleu-SW alouate	0%	8.3%	8%	6.9%
Ops bleu-SW gorille	8.3%	0%	✓ 0.3%	5.7%
Ops bleu-SW homme	8%	✓ 0.3%	0%	5.4%
Ops bleu-SW macaque	6.9%	5.7%	5.4%	0%

✓ Rapprochement entre Ops bleu-SW gorille et Ops bleu-SW homme

Valider le rapprochement

Rechercher dans la matrice le % de différences le plus faible entre 2 espèces. D'un point de vue biologique et évolutif, cela signifie qu'elles sont proches et qu'elles partagent un Dernier Ancêtre Commun 'récent' (= DAC).

Valider le rapprochement ; Une nouvelle fenêtre va s'ouvrir avec une matrice recalculée et l'arbre correspondant.

Matrice des distances

Faites un rapprochement en sélectionnant le pourcentage de différence le plus faible

	Ops bleu-SW alouate	Rapprochement n°1	Ops bleu-SW macaque
Ops bleu-SW alouate	0%	8.2%	6.9%
Rapprochement n°1	8.2%	0%	✓ 5.6%
Ops bleu-SW macaque	6.9%	✓ 5.6%	0%

✓ Rapprochement entre Rapprochement n°1 et Ops bleu-SW macaque

Valider le rapprochement

Arbre phylogénétique



Recommencer les étapes 1 et 2 jusqu'à terminer la matrice et l'arbre

← Étape précédente Étape n°3

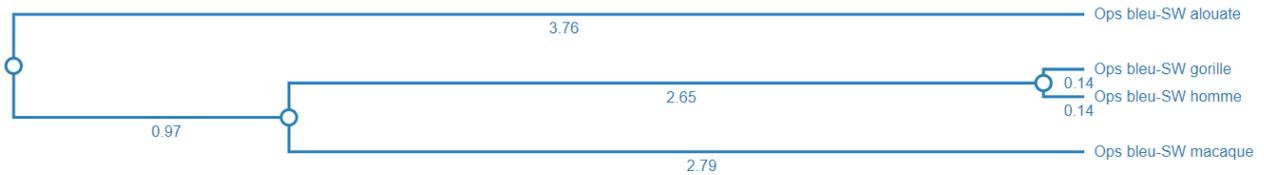
✓ REMPLISSAGE — ✓ RAPPROCHEMENT — 3 ARBRE PHYLOGÉNÉTIQUE

Matrice des distances

	Ops bleu-SW alouate	Rapprochement n°2
Ops bleu-SW alouate	0%	✓ 7.5%
Rapprochement n°2	✓ 7.5%	0%

✓ Rapprochement entre Ops bleu-SW alouate et Rapprochement n°2

Arbre phylogénétique



Un peu de biologie... après tout ce traitement informatique, que signifie cet arbre ? La comparaison moléculaire, ici la protéine 'opsine' bleue, chez les 4 espèces de primates, alouate, gorille, homme, macaque, permet de conclure que l'homme et le gorille sont très proches génétiquement et qu'ils possèdent un Dernier Ancêtre Commun (DAC) exclusif que ne partagent pas l'alouate et le macaque. En langage courant le plus proche cousin du gorille n'est pas le macaque ou l'alouate comme le pensent 99.9% des français mais bien l'Homme. CQFD !

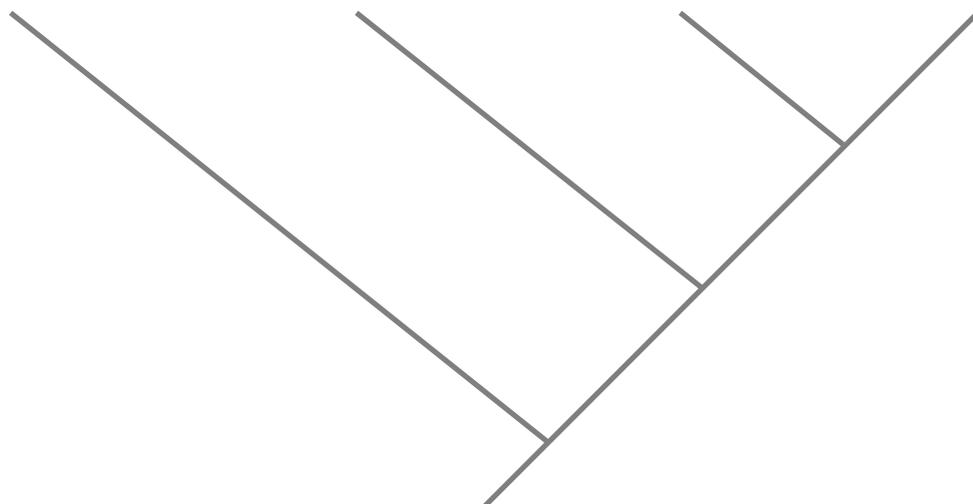


Alouate

Macaque

Homme

Gorille



Arbre phylogénétique de 4 primates, basé sur la comparaison moléculaire de la protéine opsine

Objectif 7 : digérer de l'ADN avec des enzymes de restriction et générer des fragments de restriction

Les enzymes de restriction sont des ciseaux moléculaires capables couper l'ADN sur lorsqu'elles vont lire une séquence de quelques nucléotides spécifique. Dans notre exemple, nous utiliserons l'enzyme de restriction Hae III qui coupe l'ADN lorsqu'elle lit la séquence GGCC.

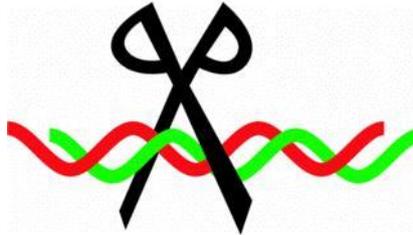
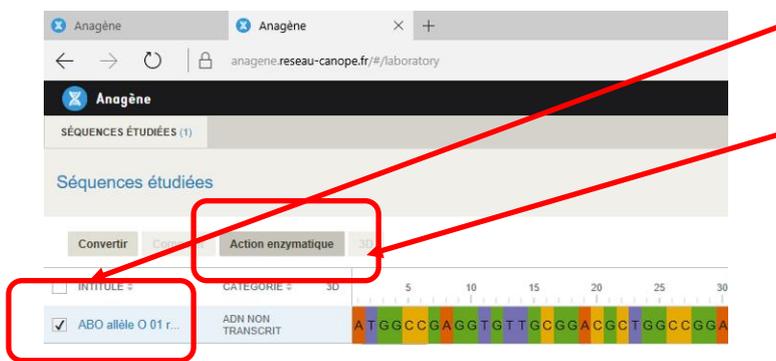
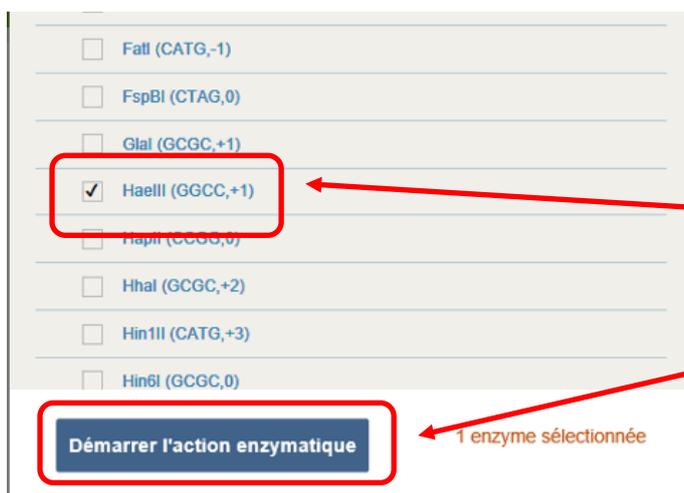


Schéma d'une enzyme de restriction



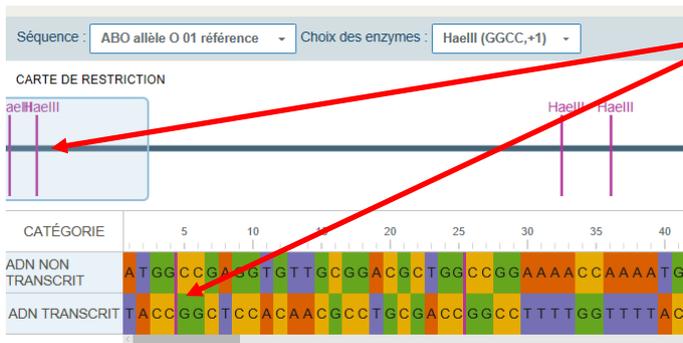
Le screenshot montre l'interface web Anagène. Une séquence d'ADN est affichée : ATGGCCGAGGTGTTGCCGACGCTGGCCGGA. L'onglet « Action enzymatique » est sélectionné. Le bouton « Démarrer l'action enzymatique » est visible en bas à gauche.

- Il faut au préalable avoir sélectionné une séquence d'ADN.
- Cliquer sur « action enzymatique ».

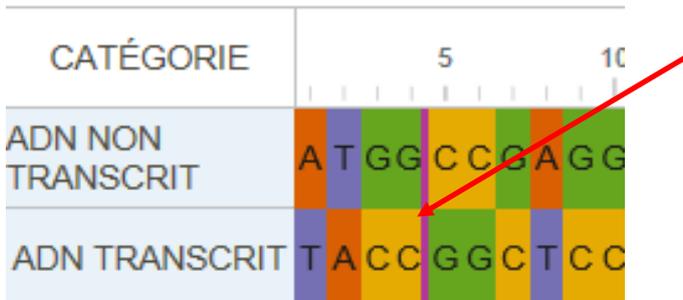


Le screenshot montre une liste d'enzymes de restriction. L'enzyme HaeIII (GGCC,+1) est sélectionnée. Le bouton « Démarrer l'action enzymatique » est visible en bas à gauche.

- Cocher l'enzyme de restriction de votre choix ; Ici Hae III qui coupe la séquence GGCC
- Cliquer sur « démarrer l'action enzymatique » pour couper l'ADN



□ Dans la fenêtre qui s'affiche, les sites de restriction, c'est-à-dire de coupure, apparaissent en violet. Le site de restriction correspond bien au site spécifique de l'enzyme de restriction choisie **GGCC**



□ La position exacte de la coupure peut être déterminée par la règle de numérotation. Dans cet exemple, la première coupure se déroule après le 4^{ème} nucléotide ce qui veut dire que le premier morceau d'ADN est constitué de 4 pb.

Tableau de l'action enzymatique

Nombre de coupures par enzyme

Séquences	Enzymes
ABO allèle O 01 référence	HaeIII (GGCC,+1) 12

□ Cliquer sur voir le « tableau de l'action enzymatique » et la fenêtre ci-contre s'ouvre.

□ Dans cet exemple, l'enzyme de restriction Hae III, coupe la séquence d'ADN 12 fois, ce qui signifie qu'il y aura 13 fragments de restriction générés par l'action de cette enzyme.