



Systematique = Taxonomie = Taxinomie

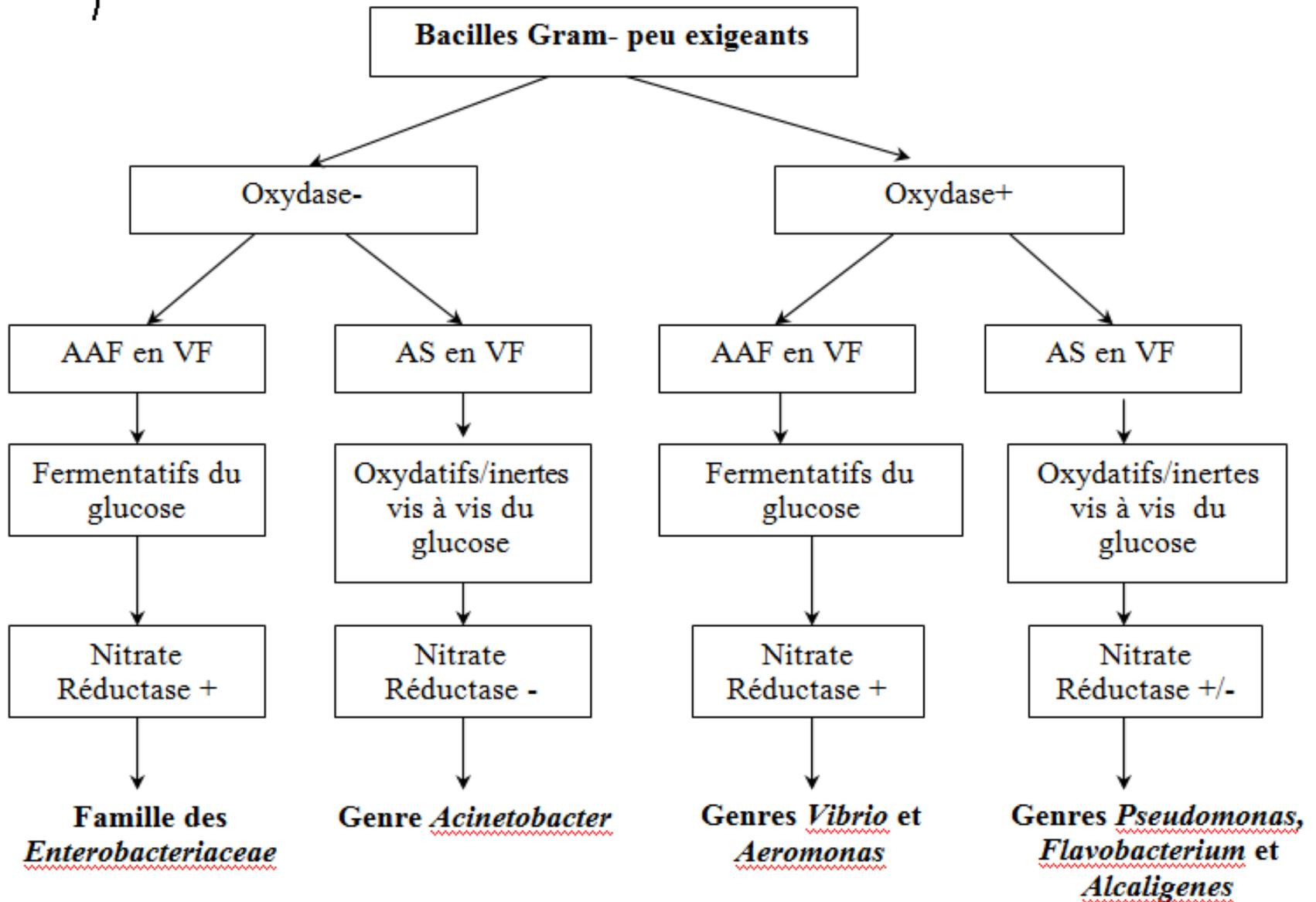
- Science de la classification des organismes vivants.
- Constituée de 3 domaines :
 - ✓ l'identification
 - ✓ la nomenclature : ensemble des règles établies pour donner un nom à un taxon
 - ✓ la classification : arrangement des organismes en groupes (taxons) selon leurs similitudes

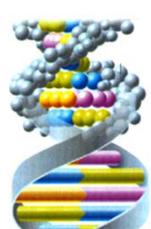


Critères de taxonomie phénotypique

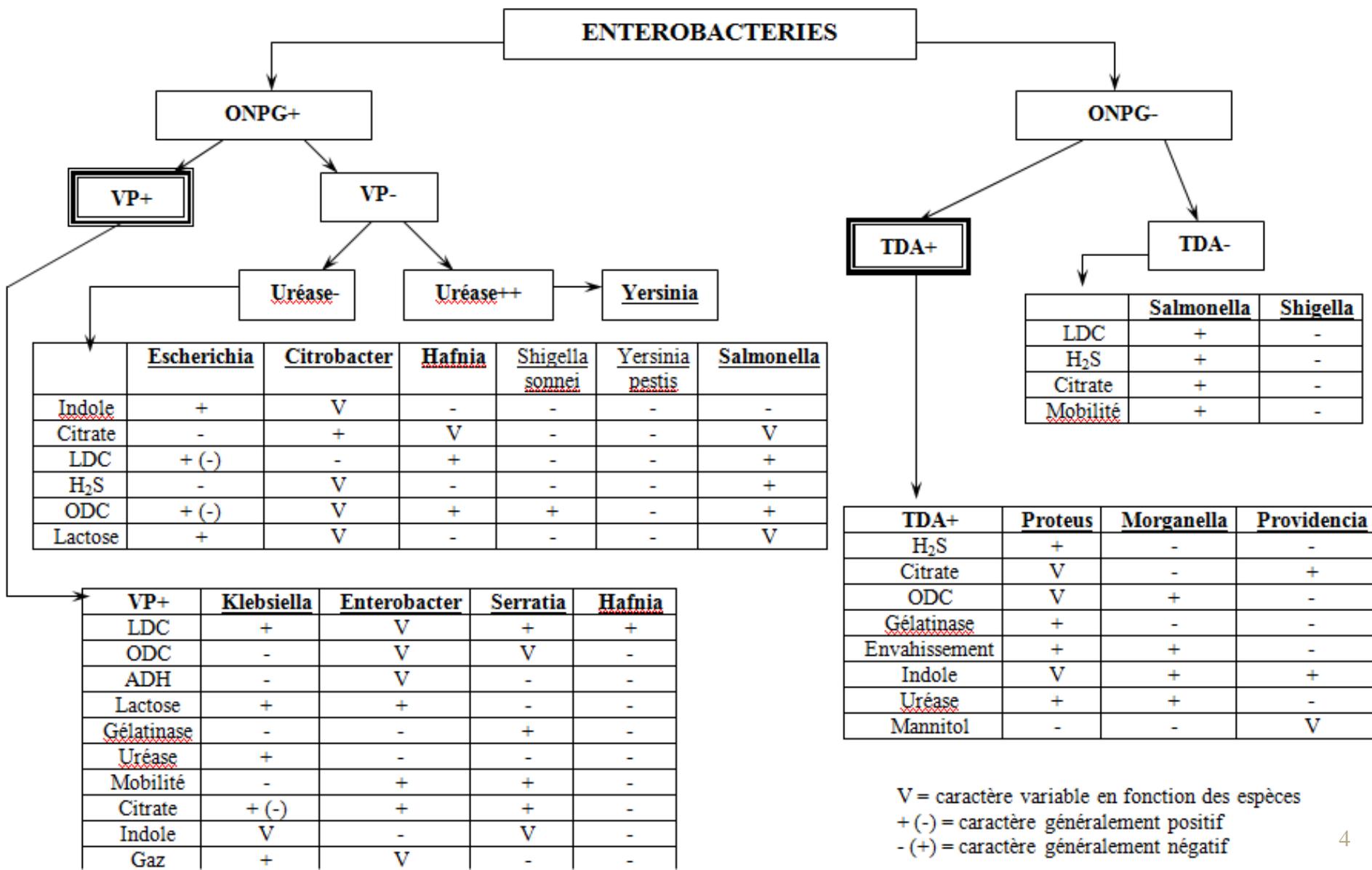
- Caractères cultureux et physiologiques
- Caractères morphologiques
- Caractères biochimiques
- Données chimiotauxonomiques

Taxonomie dichotomique





Taxonomie dichotomique



V = caractère variable en fonction des espèces
 + (-) = caractère généralement positif
 - (+) = caractère généralement négatif



Approche probabiliste (numérique)

Codage des données

<i>Souches</i>	<i>Réponse aux tests T_1 à T_7</i>						
S_1	001	001	011	111	101	000	00
S_2	111	011	000	011	101	010	00
S_3	001	001	011	101	011	000	10
S_4	001	100	011	111	101	000	00
S_5	010	001	011	101	011	000	10
S_6	011	011	000	011	101	010	00



Approche probabiliste (numérique)

Traitement des données

- Coefficient de similitude de Jaccard Sneath :

$$S(i,j) = \frac{Na}{Na + Nb}$$

Na = nombre de caractères \oplus chez i et j

Nb = nombre de caractères \oplus chez l'une des deux souches seulement



Approche probabiliste (numérique)

Traitement des données

Activité :

Consigne : compléter le tableau suivant en calculant les coefficients de similitude à partir des informations de la diapo n°5.

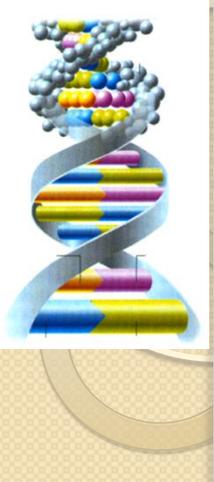
Temps : 10 min.

	S1	S2	S3	S4	S5	S6
S1						
S2						
S3						
S4						
S5						
S6						

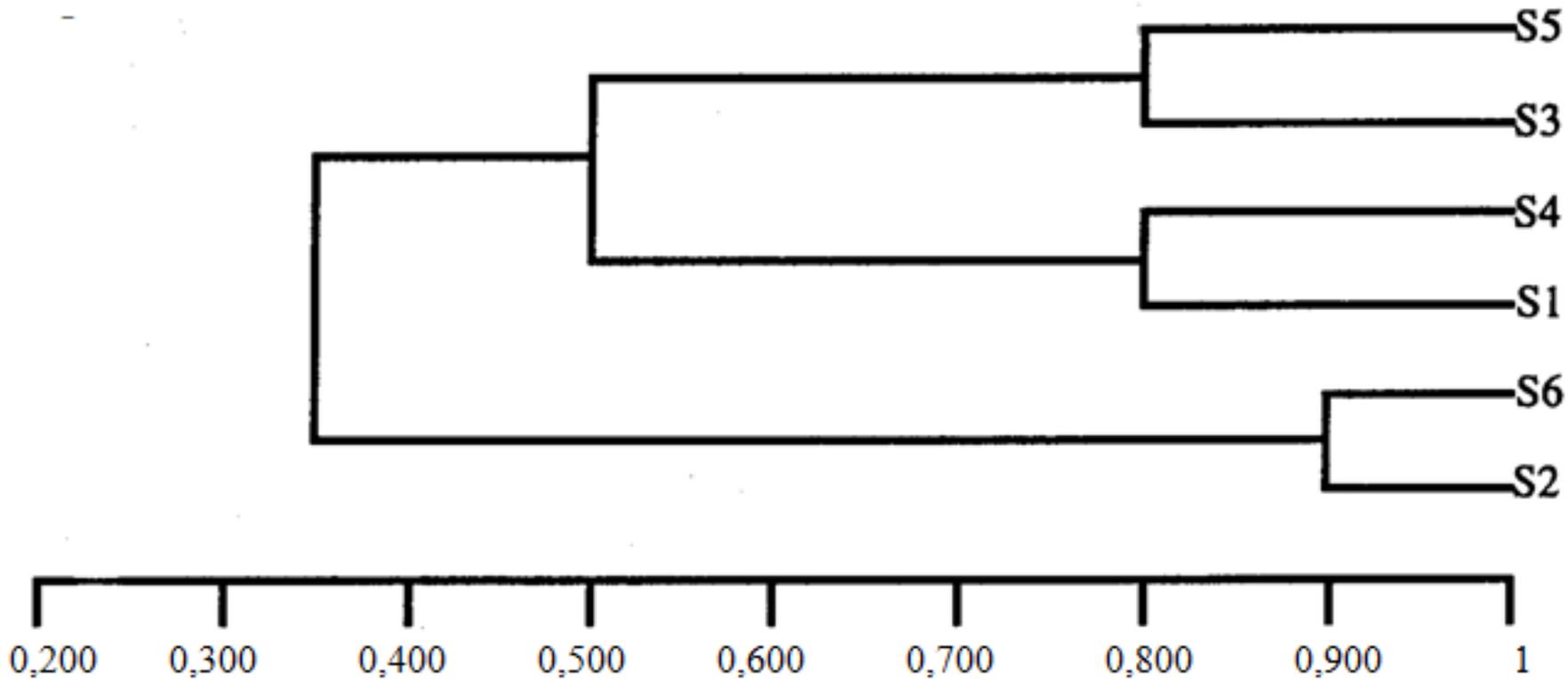


Approche probabiliste (numérique) Interprétation des données

- Deux souches appartiennent :
 - à la même espèce si $S \geq 0,85$
 - au même genre si $S \geq 0,65$



Approche probabiliste (numérique) Construction de dendrogrammes



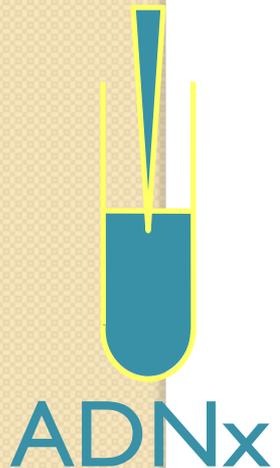


Détermination du GC% :

Ultracentrifugation en gradient de chlorure de Césium

Densité de l'ADN
proportionnelle au
GC%

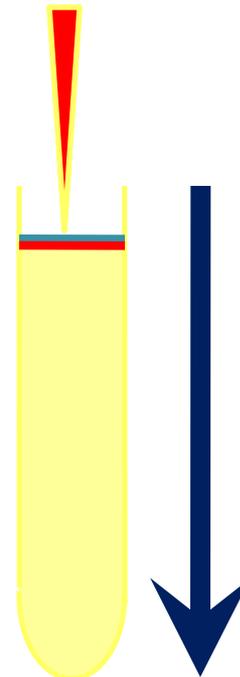
Gradient
croissant de
chlorure de
Césium =
gradient de
densité



ADNx



Marqueur
de densité

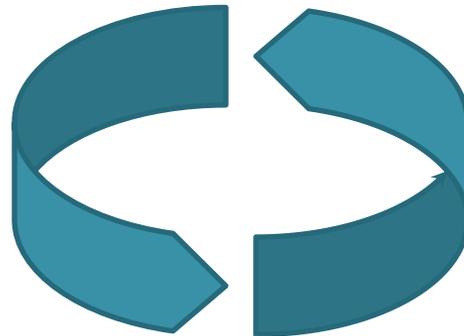
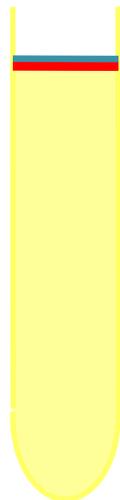




Détermination du GC% : Ultracentrifugation en gradient de chlorure de Césium

Densité de l'ADN proportionnelle au
GC%

Ultracentrifugation

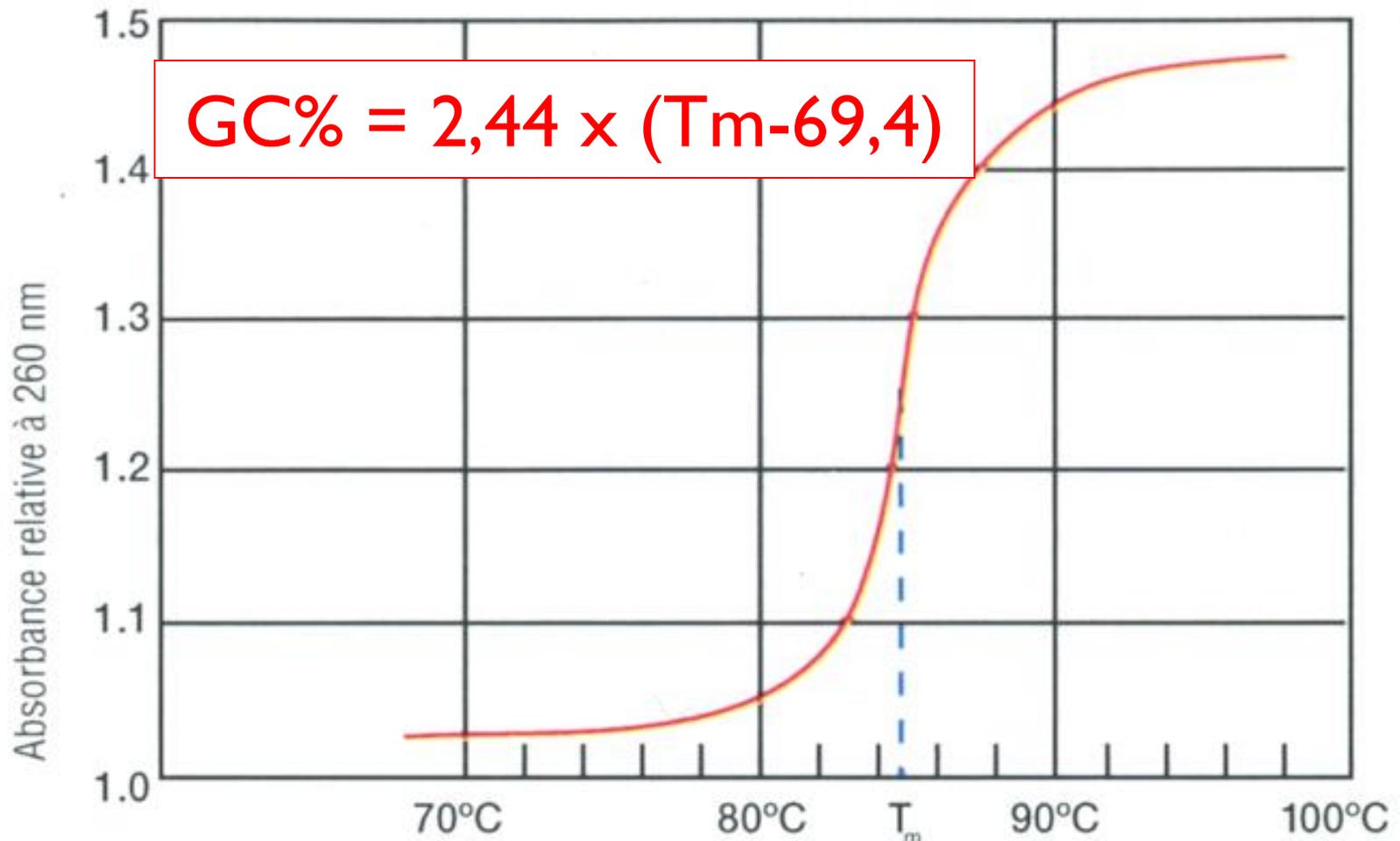


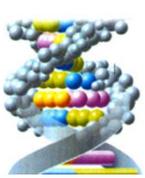
20%
40%
60%
80%



Détermination du GC% :

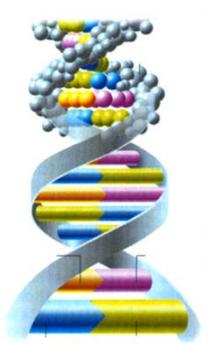
Détermination de la température moyenne de fusion (ou de semi-dénaturation)





Détermination du GC%

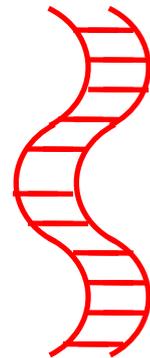
Organisme	Pourcentage G+C	Organisme	Pourcentage G+C	Organisme	Pourcentage G+C
Bactéries		<i>Streptomyces</i>	69-73	Moisissures visqueuses	
<i>Actinomyces</i>	59-73	<i>Sulfolobus</i>	31-37	<i>Dictyostelium</i> sp.	22-25
<i>Anabaena</i>	38-44	<i>Thermoplasma</i>	46	<i>Lycogala</i>	42
<i>Bacillus</i>	32-62	<i>Thiobacillus</i>	52-68	<i>Physarum polycephalum</i>	38-42
<i>Bacteroides</i>	28-61	<i>Treponema</i>	25-54		
<i>Bdellovibrio</i>	33-52			Mycètes	
<i>Caulobacter</i>	63-67	Algues		<i>Agaricus bisporus</i>	44
<i>Chlamydia</i>	41-44	<i>Acetabularia mediterranea</i>	37-53	<i>Amanita muscaria</i>	57
<i>Chlorobium</i>	49-58	<i>Chlamydomonas</i> sp.	60-68	<i>Aspergillus niger</i>	52
<i>Chromatium</i>	48-70	<i>Chlorella</i> sp.	43-79	<i>Blastocladiella emersonii</i>	66
<i>Clostridium</i>	21-54	<i>Cyclotella cryptica</i>	41	<i>Candida albicans</i>	33-35
<i>Cytophaga</i>	33-42	<i>Euglena gracilis</i>	46-55	<i>Claviceps purpurea</i>	53
<i>Deinococcus</i>	62-70	<i>Nitella</i>	49	<i>Coprinus lagopus</i>	52-53
<i>Escherichia</i>	48-52	<i>Nitzschia angularis</i>	47	<i>Fomes fraxineus</i>	56
<i>Halobacterium</i>	66-68	<i>Ochromonas danica</i>	48	<i>Mucor rouxii</i>	38
<i>Hyphomicrobium</i>	59-67	<i>Peridinium triquetrum</i>	53	<i>Neurospora crassa</i>	52-54
<i>Methanobacterium</i>	32-50	<i>Scenedesmus</i>	52-54	<i>Penicillium notatum</i>	52
<i>Micrococcus</i>	64-75	<i>Spirogyra</i>	39	<i>Polyporus palustris</i>	56
<i>Mycobacterium</i>	62-70	<i>Volvox carteri</i>	50	<i>Rhizopus nigricans</i>	47
<i>Mycoplasma</i>	23-40			<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	36-42
<i>Myxococcus</i>	68-71	Protozoaires		<i>Saprolegnia parasitica</i>	61
<i>Neisseria</i>	47-54	<i>Acanthamoeba castellanii</i>	56-58		
<i>Nitrobacter</i>	60-62	<i>Amoeba proteus</i>	66		
<i>Oscillatoria</i>	40-50	<i>Paramecium</i> sp.	29-39		
<i>Prochloron</i>	41	<i>Plasmodium berghei</i>	41		
<i>Proteus</i>	38-41	<i>Stentor polymorphus</i>	45		
<i>Pseudomonas</i>	58-70	<i>Tetrahymena</i> sp.	19-33		
<i>Rhodospirillum</i>	62-66	<i>Trichomonas</i> sp.	29-34		
<i>Rickettsia</i>	29-33	<i>Trypanosoma</i> sp.	45-59		
<i>Salmonella</i>	50-53				
<i>Spirillum</i>	38				
<i>Spirochaeta</i>	51-65				
<i>Staphylococcus</i>	30-38				
<i>Streptococcus</i>	33-34				



Hybridation ADN-ADN

Principe

Fragmentation : ADN 300-400 pb
Dénaturation



Hybride :
ADN hétérologue

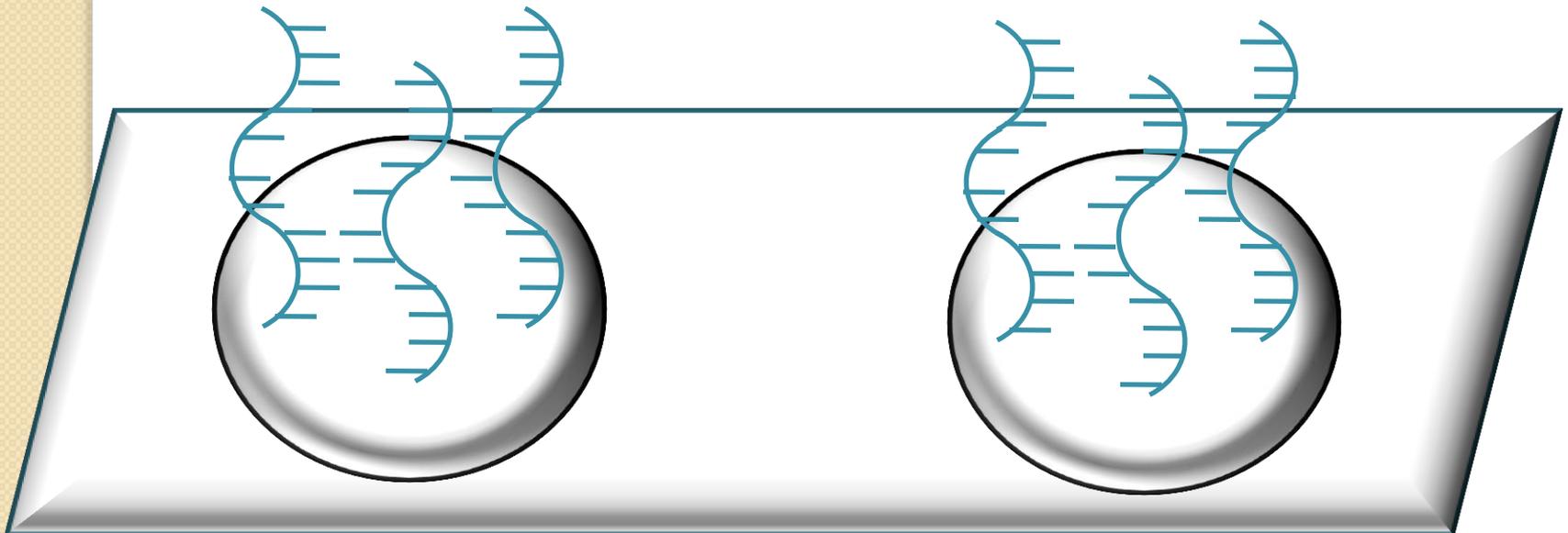


Hybridation ADN-ADN

% d'hybridation à Tor

⇒ Fragmentation, dénaturation de l'ADN d'une souche X

⇒ Fixation sur membrane de nitrocellulose



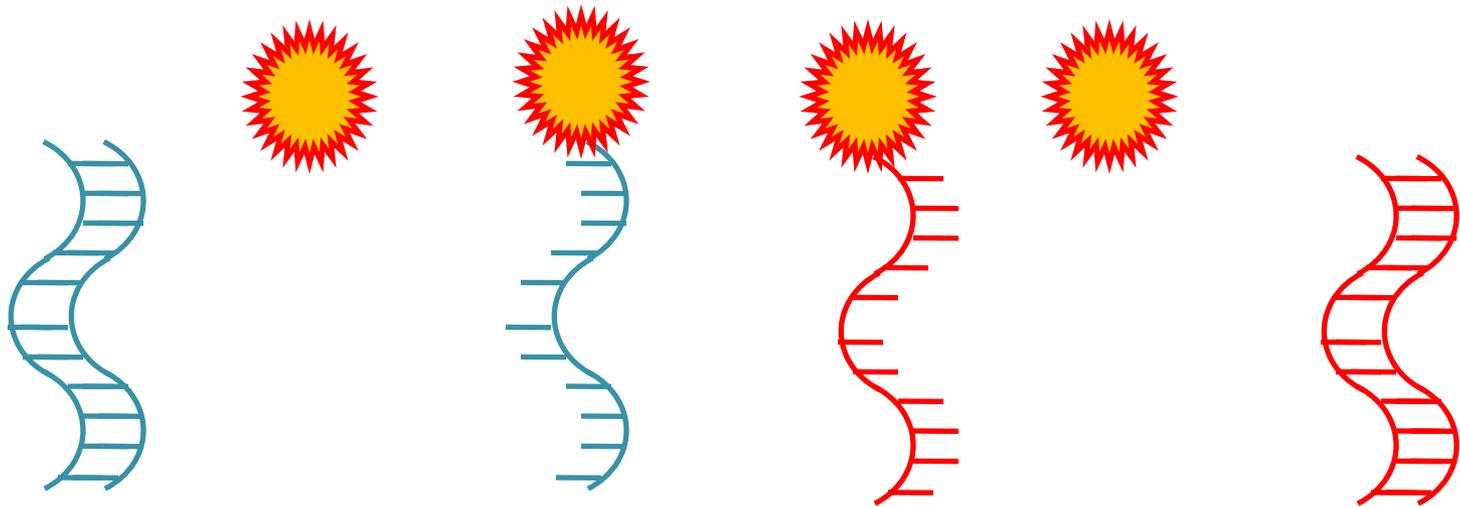


Hybridation ADN-ADN

% d'hybridation à Tor

⇒ Fragmentation, dénaturation de l'ADN des souches
X et Y

⇒ Marquage radioactif





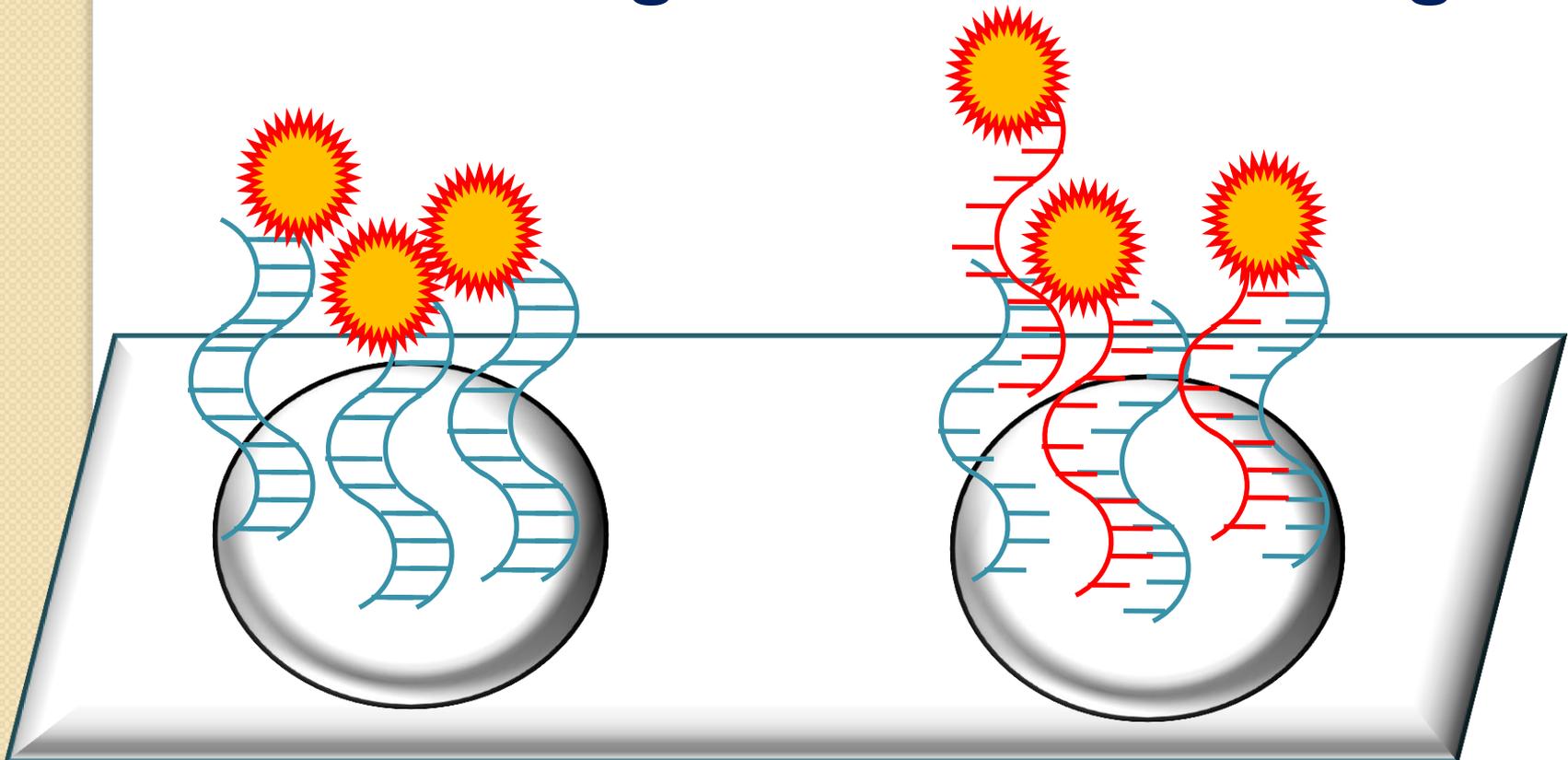
Hybridation ADN-ADN

% d'hybridation à T_{or}

⇒ Hybridation : dépôt des ADN marqués sur la membrane (1 spot par souche) : $T_{or} = T_m - 30^{\circ}\text{C}$

ADN homologue

ADN hétérologue



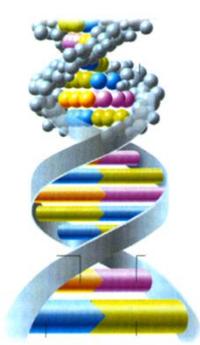


Hybridation ADN-ADN

% d'hybridation à Tor

⇒ Mesure de la radioactivité

$$\% \text{Hybridation} = \frac{\text{ADN hétérologue}}{\text{ADN homologue}} \times 100$$



Hybridation ADN-ADN

Stabilité thermique des hybrides : ΔT_m

⇒ Formation d'ADN
homologue et
hétérologue

⇒ Détermination de
la T_m des deux
types d'ADN



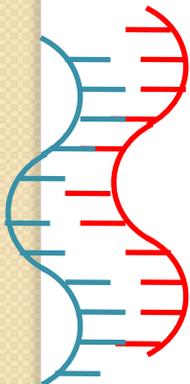
T_m homologue

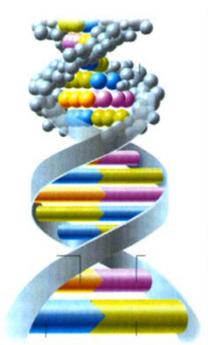


$$\Delta T_m (^{\circ}\text{C}) = T_m \text{ homo} - T_m \text{ hétéro}$$



T_m hétérologue





Hybridation ADN-ADN

Interprétation

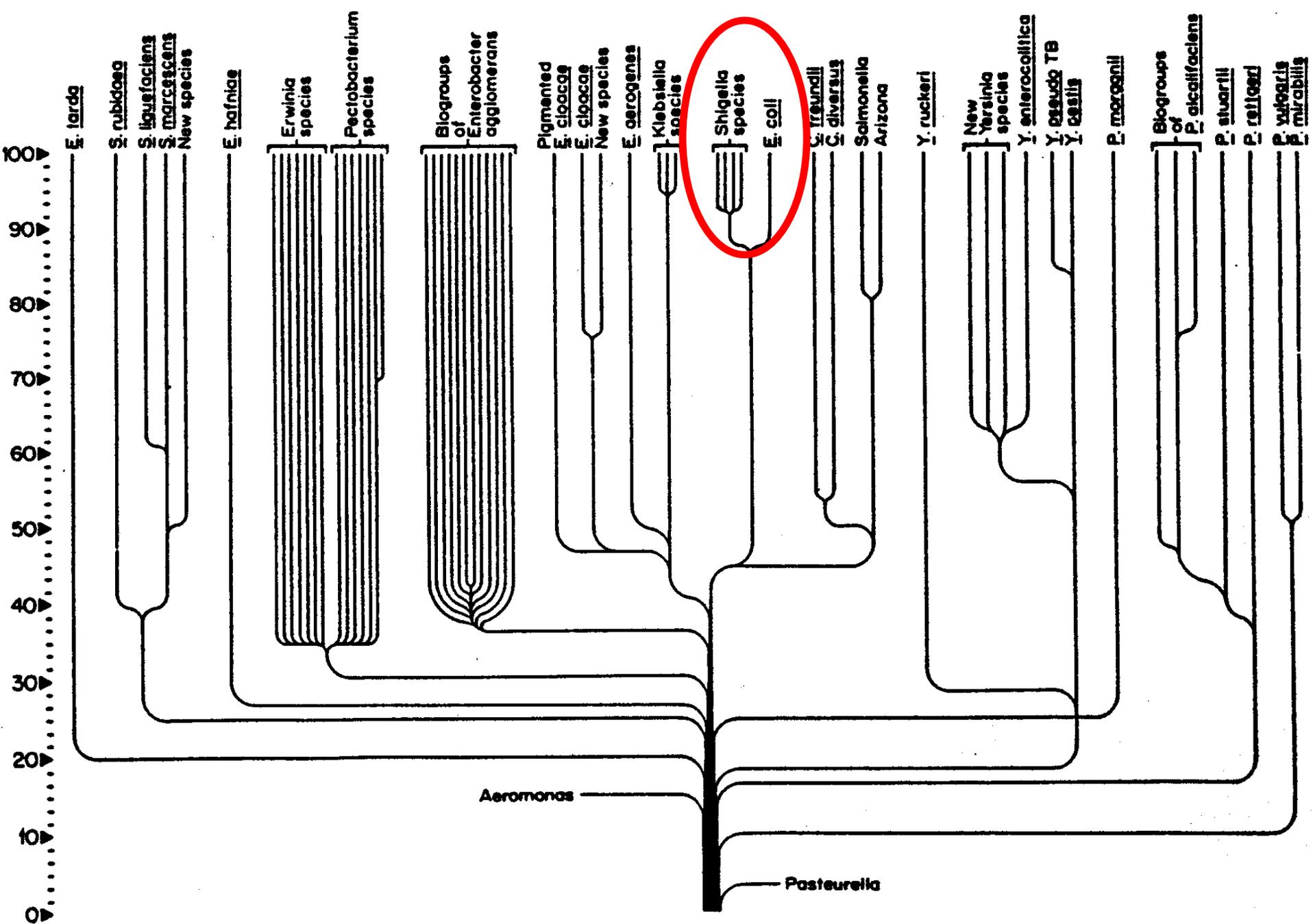
- Deux souches appartiennent à la même espèce si :

☞ % Hybridation $\geq 70\%$

☞ $\Delta T_m \leq 5^\circ\text{C}$

- Deux souches appartiennent au même genre si :

☞ % Hybridation $\geq 30\%$





RFLP

Restriction Fragment Length Polymorphism

[Animation : Enzyme de restriction](#)

[Animation : RFLP](#)

Activité :

Consigne : visualiser les deux vidéos. Rédiger le principe de la technique RFLP.

Temps : 10 min.



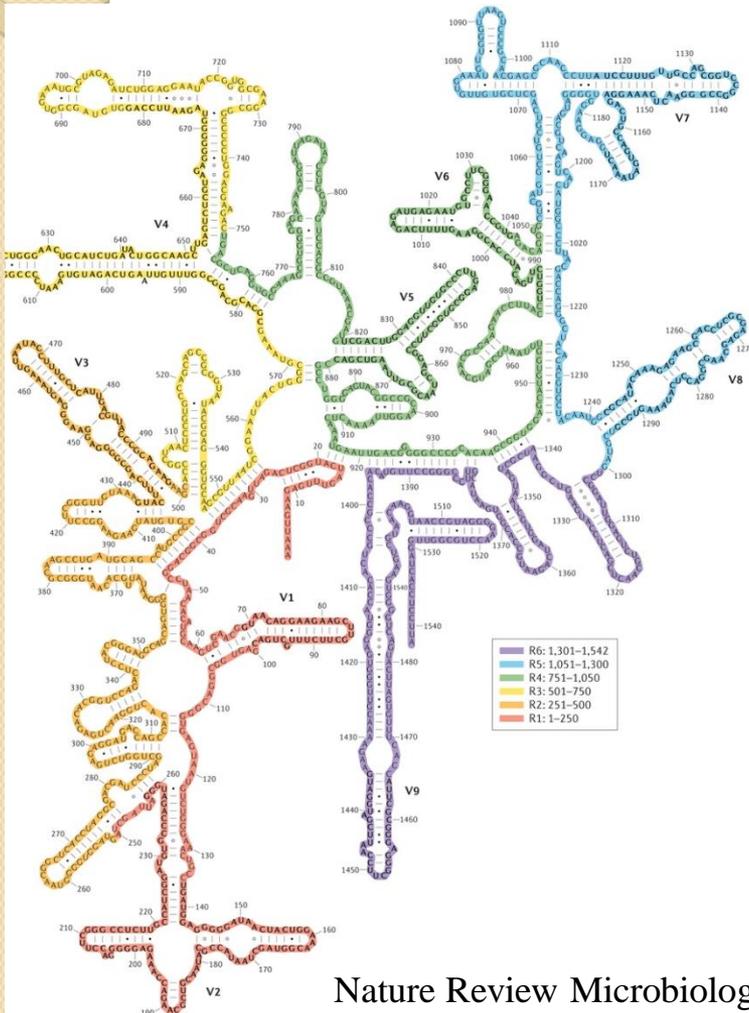
Séquençage : gène codant l'ARN16S

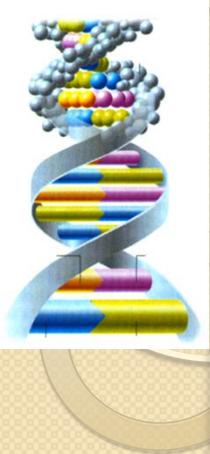
- ARN ribosomal trouvé chez toutes les espèces (petite sous unité)

- Séquençage facile : petite taille (1500-1600 pb)

- Régions très conservées : comparaison de souches éloignées

- Régions variables : comparaison de souches proches





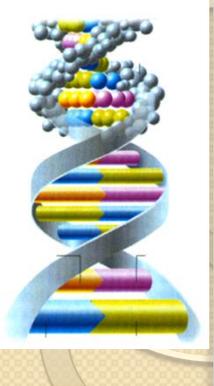
Séquençage du gène codant l'ARNI 6S : séquences signatures spécifiques des trois domaines

Signatures oligonucléotidiques ^a	Position approximative ^b	Occurrence chez les ^c		
		<i>Archaea</i>	<i>Bacteria</i>	<i>Eukarya</i>
CACYYG	315	0	> 95	0
AAACUCAAA	910	3	100	0
AAACUAAAAG	910	100	0	100
YUYAAUUG	960	100	< 1	100
CAACCYYCR	1110	0	> 95	0
UCCCUG	1380	> 95	0	100
UACACACCG	1400	0	> 99	100
CACACACCG	1400	100	0	0

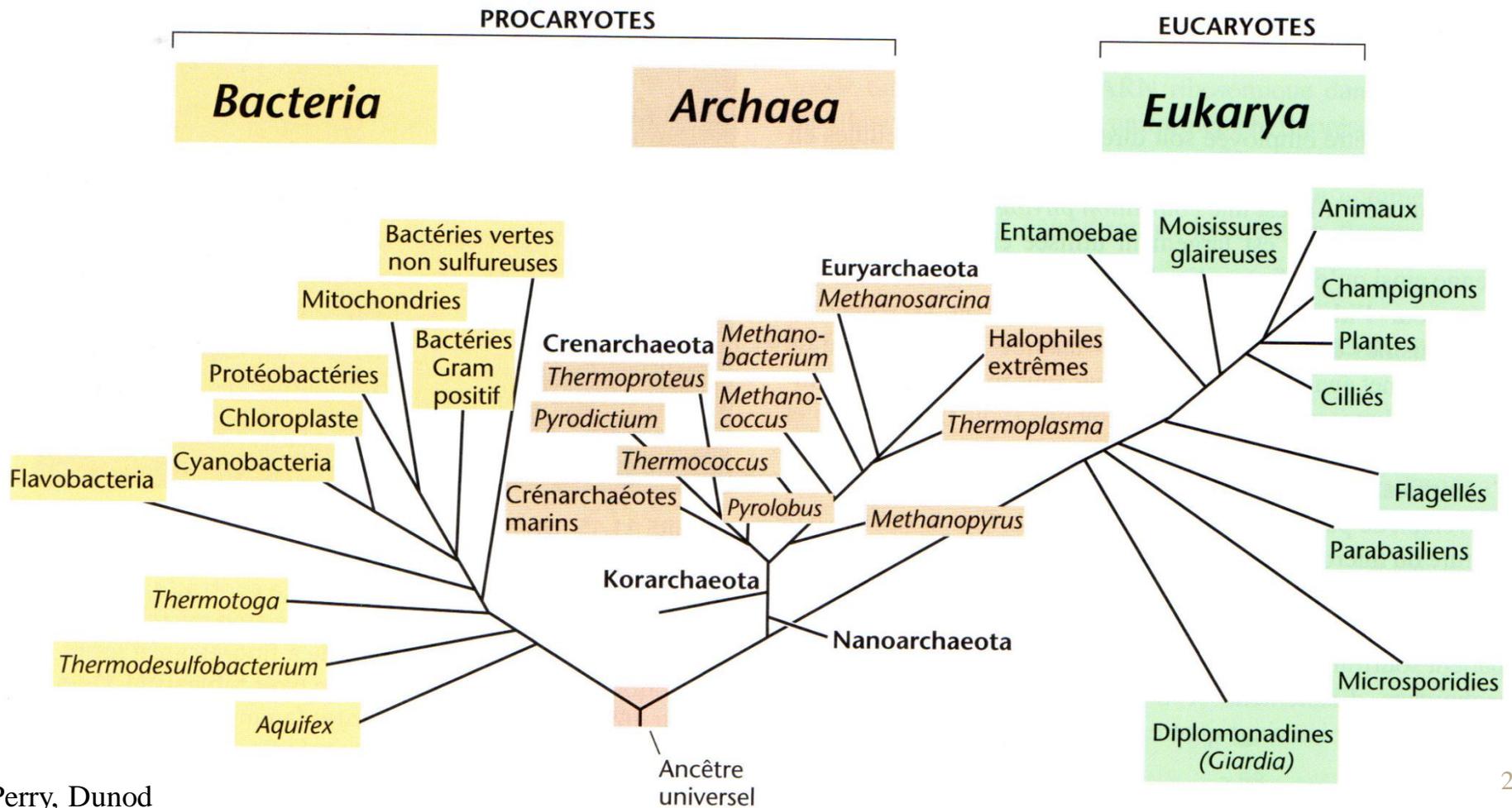
^a Y, n'importe quelle pyrimidine ; R, n'importe quelle purine.

^b Voir figure 11.11c pour le schéma de numérotation de l'ARNr 16S.

^c L'occurrence indique le pourcentage d'organismes examinés contenant cette séquence dans chaque domaine.



Arbre phylogénétique basé sur la comparaison des ARN 16S et 18S

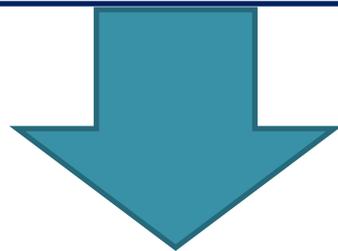




Amplification génique par PCR

Animation principe PCR

Amorces spécifiques d'un taxon
(espèce, genre, famille...)



Identification ou comparaison de souches



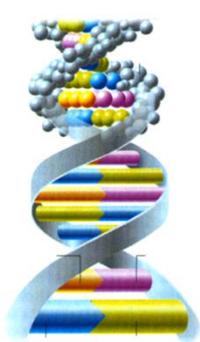
Les trois domaines de Karl Woese

	Bacteria	Archaea	Eukarya
Noyau	-	-	+
Ribosome	70S	70S	80S
Histones	-	+	+
ADN circulaire	+	+	-
Peptidoglycane	+	-	-
Méthanogenèse	-	+	-
Croissance au delà de 100°C	-	+	-



Classification de Bergey

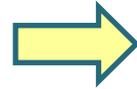
Fichier de synthèse



Classifications fonctionnelles

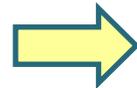
distinction de souches différentes dans une même espèce

☞ **Sérovars**
= sérotype



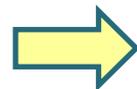
ensemble de souches présentant
une même spécificité
antigénique

☞ **Pathovars**



ensemble de souches provoquant
un même syndrome clinique

☞ **Phagovars**
= lysotype



ensemble de souches présentant
un même profil de sensibilité
aux bactériophages



Puces à ADN

ADN pour une eau plus pure

gt-quatre paramètres actuels façon à anticiper sur les réglementations futures.

La technologie sera fournie par l'Américain Affymetrix, le leader mondial des puces à ADN, déjà détenteur de BioMérieux dans le diagnostic médical. Une puce à ADN est constituée d'un support de 1 centimètre carré environ, sur lequel sont fixées des dizaines de milliers de sondes moléculaires. Celles-ci sont capables de reconnaître, et s'hybrident avec eux, des brins d'ADN identiques, spécifiques des micro-organismes présents dans l'eau à analyser. La « lecture » de la puce par un rayon laser permet de repérer ces hybridations, grâce à des mar-



Plusieurs dizaines de milliers de sondes moléculaires sur une puce de 1 centimètre carré.

Les chercheurs de la Lyonnaise se chargeront de la mise au point des méthodes de préparation