

Pôle d'analyse des acides nucléiques

Emilie GUERIN
Lionel FORESTIER
Ingénieurs - Responsables techniques

Valentin TILLOY - Ingénieur (gestion des données)

Sophie ALAIN
PU-PH
Réfèrent scientifique

contact.adn@unilim.fr

Présentation



Situé principalement au sein du CBRS, un grand nombre d'outils et de techniques permettent l'analyse des acides nucléiques à des fins de séquençage, de génotypage et d'étude d'expression. Les analyses, majoritairement automatisés, sont effectuées dans un environnement contrôlé répondant aux enjeux scientifiques actuels en terme de recherches académiques, cliniques et privées. Les appareils accessibles sur le plateau peuvent faire l'objet d'une gestion différente.

Technologies

Fragmentation des acides nucléiques



Bioruptor Pico et Covaris : fragmentation des acides nucléiques par sonication

Dosages qualitatifs et quantitatifs



QuBit 2.0 : fluoromètre, appareil de prédilection pour le dosage des librairies



BioAnalyzer : système d'électrophorèse en microfluidique, quantification, estimation de la pureté et sizing des acides nucléiques

Conception et formatage des échantillons



Biomek NXp Span8 : automate de pipetage dédié à la préparation des librairies NGS. 4 protocoles installés :
- AmpliSeq (Ion Torrent) - NimbleGen Kappa
- TruSeq mRNA (Illumina) - MedIP Seq



Library builder : préparateur de librairies dédié à la technologie IonTorrent et au préparation de librairies ADN fragmenté et ARN

Phase analytique

Séquençage



3130xl et 3500xIDx : analyse d'ADN marqués par électrophorèse capillaire. Séquençage Sanger et analyse de fragments



Ion Proton (OneTouch2 et Ion Chef) IonTorrent : Séquençage « postlight ». 15Gb, 80M reads, 200pb



MiSeq (Illumina) : 300Mb-15Gb
1M à 25 M reads
2 x 300pb



NextSeq (Illumina) : 150Gb
400M reads
2 x 150pb



Pyromark Q24 : pyroséquenceur détection SNP
24 échantillons, séquences courtes



MinION (Oxford nanopore technologies) : 3^{ème} génération utilisation de protéines naturelles : les nanopores. 10Gb lecture de 4,5 à 30Kb

Gestion des données



QuantStudio 12K : PCR en temps réel format TLDA 384 ou Open Array pour des analyses ciblées à moyen débit de transcriptome et de génotypage



Gene Atlas Affymetrix : système de transcriptomique à faible débit sur puce



QX200 : Appareil de droplet digital PCR (ddPCR). PCR quantitative réalisée sur des microgouttes en émulsion, sonde et EvaGreen

Torrent server (15To + 10To)

Cabi (16To)

98WL182 (40To)

Nas (300To)

- Stockage des données sur serveurs
- Analyse qualitative : rapport de runs, analyse qualité (couverture, profondeur,...) et conseils sur demande

Applications et exemples

- Whole génome (petits génomes)
- Séquençage ciblé (amplicons, capture)
- Génotypage
- Transcriptome
- Exome
- MedIP Seq, ChIP Seq
- Métagénomique

- Oncologie moléculaire CHU : Caractérisation diagnostique et théragnotique des cancers par séquençage selon la technologie Ion Proton (Ampliseq)
- LCSN : Analyse du transcriptome du pin Douglas
- Génétique Moléculaire CHU : Caractérisation de variants impliqués dans la maladie de Charcot-Marie-Tooth (Ampliseq)
- CNR-CMV : Etude de l'émergence des résistances aux antiviraux en population (produits de PCR)
- UMR1092 : Recherche d'intégrons comme marqueur de résistance aux antibiotiques dans différents environnements (Proton). Caractérisation de la nature de l'environnement génétique d'intégrons (MinION)
- Cytogénétique : Dépistage prénatal non-invasif des trisomies 13, 18 et 21 fœtales (MiSeq)
- UMR7276 : Variants EBV et pouvoir pathogène
- U850 : Recherche de variants génétiques associés à la survenue de maladies post-greffe
- UGMA 1061 : Etude d'une région impliquée dans le phénotype développement musculaire des bovins