



**GET**  
Génome et  
Transcriptome

# Journée Développements 30 septembre 2013

<http://get.genotoul.fr>

**Denis Milan**

**Cécile Donnadieu**

**Olivier Bouchez**

# Politique qualité 2013

- **Poursuivre les efforts afin :**
  - d'assurer un équilibre entre **production** et **développements**,
  - d'assurer une meilleure programmation de la production notamment côté NGS,
  - de réaliser les **développements prioritaires** sur le séquençage, à la fois en génomique et en analyse des données produites.
- **Poursuivre le **développement de la plateforme** tout en maîtrisant son évolution et en assurant une forte exigence sur le maintien d'un **niveau de qualité élevé** au sein d'une équipe en forte croissance. La forte croissance nécessite de porter une attention importante à la **cohésion** et à la bonne **structuration** de l'équipe.**
- **Nous aurons à cœur d'intégrer toujours mieux notre activité et nos développements dans le cadre du réseau national **France Génomique**.**

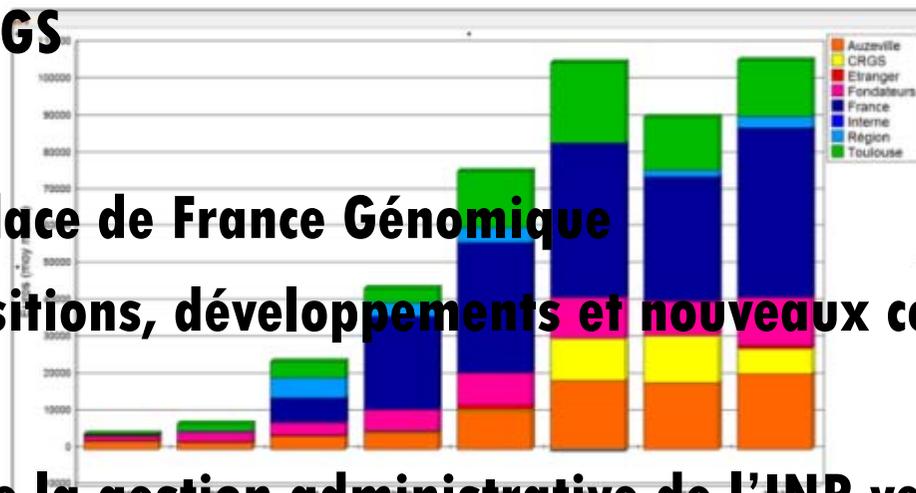
# Le Bilan 2012-2013

- **Une stabilisation de l'activité**  
**60% Agro (30% animal, 30% végétal) – 30 % santé – 10% autres**

Facturation moyenne mensuelle (6 premiers mois 2013)



- **Un investissement important dans les développements notamment autour du NGS**



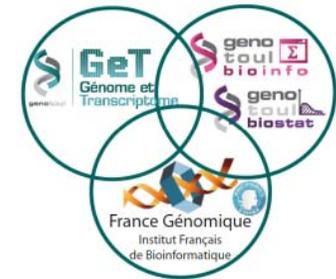
- **La mise en place de France Génomique nouvelles acquisitions, développements et nouveaux coûts**

- **Le transfer de la gestion administrative de l'INP vers l'INRA**

# L'équipe



- **Une équipe de 15 personnes**
- **Départ de Jérôme et Nathalie**
- **Arrivée de Claire, Marie, Céline**



**1 Poste AI INRA ouvert au concours 2013 dans le cadre du dispositif Sauvadet  
Dossier avant le 15 octobre 2013**

- **Employé par un EPST au moins 1 jour entre le 1er et le 31 mars 2011**
- **4 ans d'ancienneté en CDD**

# Les acquisitions des deux dernières années



## HiSeq 2500

- **Doubler** notre capacité de séquençage
- **Tendre vers des délais inférieurs à 2 mois** pour la prise en charge des projets
- **Proposer les « run rapides »**

**Partenariat Tecan**

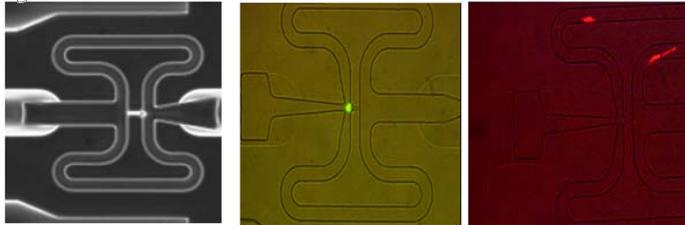


## Automatisation des librairies

- **Améliorer la Reproductibilité** des manips
- **Gain de temps** sur les étapes « lourdes »
- **Diminuer les couts**

# Les acquisitions des deux dernières années

Early acces



## C1 Fluidigm

- Permettre la capture et le traitement de cellules uniques

**QPCR – miRNAs – RNAseq**  
Macrophage, adipocytes, cellules souche, lymphocytes...



## Pyromark

- Permettre la validation de certaines données NGS

**Quantification allèles spécifique,**  
**Analyses de méthylation,**  
**Détection de SNP**

# Les partenariats et collaborations

- **6 projets en partenariat de type ANR**
  - **PEAPOL (2010-2013) INRA-Privé**
  - **CARTOSEQ (2010-2013) INRA : Identification en masse des variants génétiques influençant les caractères d'élevage chez les trois principales races laitières françaises**
  - **FUNHYMAT (2011-2013) Université: Structure et fonctionnement de tapis microbiens contaminés par des hydrocarbures**
  - **DomestiChick (2013-2015) INRA : De la génomique du genre Gallus à l'histoire de la domestication du poulet**
  - **EFFECTOORES (2013-2015) INRA : Exploitation des connaissances sur les effecteurs des Oomycetes pour la recherche de résistances durables aux maladies chez les plantes cultivées**
  - **IMPACT (2013-2015) INRA : Identification des protéines de la matrice affectant les propriétés cristallographiques de la coquille des œufs de poules et de pintades**
- **15 projets en tant que porteur ou collaborateur dans le cadre de développements technologiques**

# Les publications

- **Une 30aine de publications en co-auteur depuis 2010**
  - **2010 : 2 BMC Genomics, BMC Research Note, Oncology, AntiCancer Drugs, Sensors & Actuators,**
  - **2011 : Diabetologia, Gut, PlantJ, Developmental and comparative immunology, Nucleic Acids Research**
  - **2012 : PLoS ONE, NAR, Gene, Current Biology, Developmental and Comparative Immunology, Gene 500, Ecotoxicology, N, Biochimieew Phytologist, FEMS, Ecotoxicology, Nucleic Acids Research, PLOS Genetics, Hepatology**
  - **2013 : Plos Pathogen, FEMOS, Molecular Phylogenetics And Evolution, Genome\_Announcements, BMC, Biotechnology for biofuel, Mol Ecol Resources, Molecular Phylogenetics and Evolution, Infection Genetics and Evolution, Molcular Ecology**

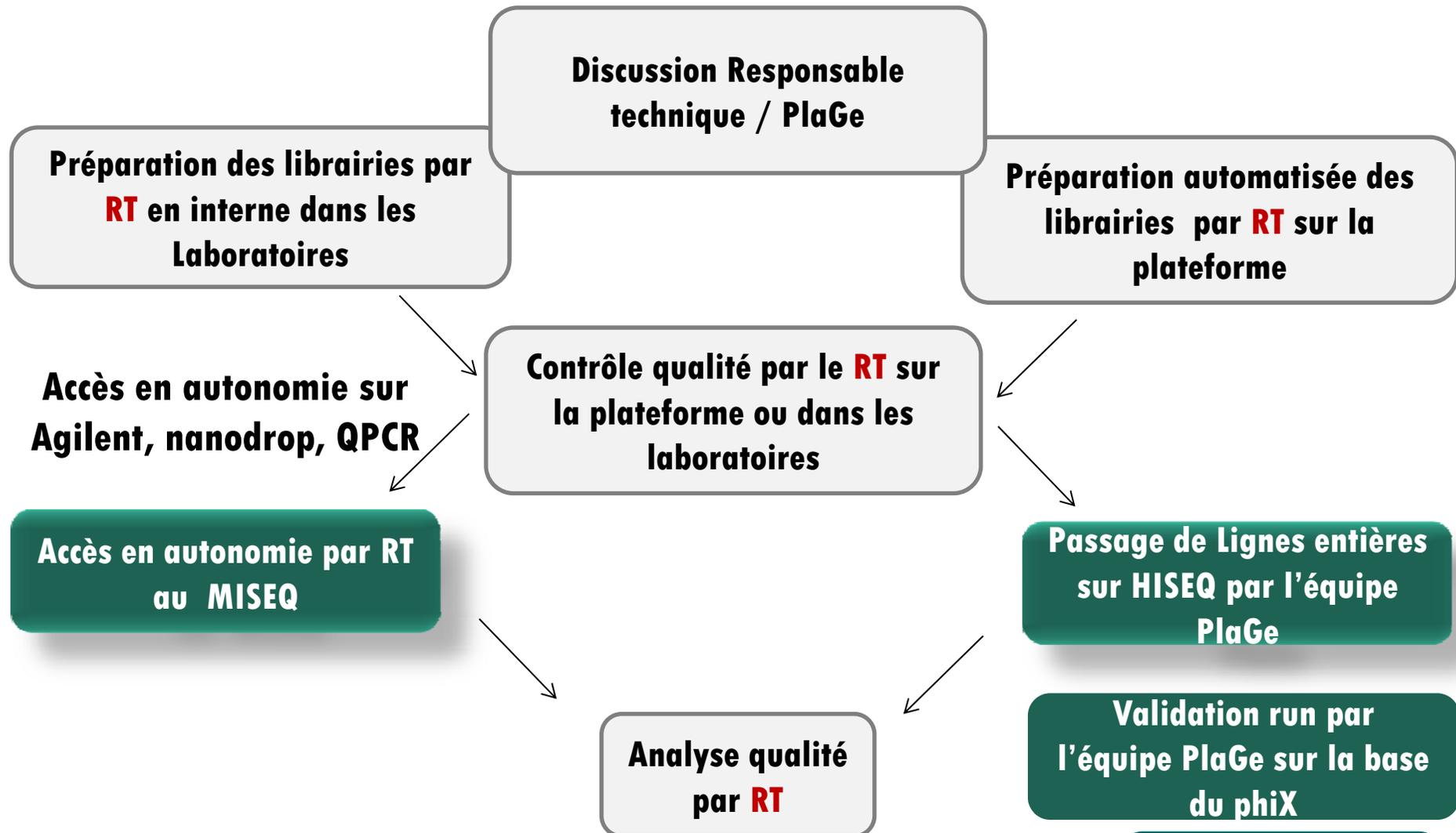
# LES NOUVEAUTÉS 2013-2014

# Le bâtiment

- **Un infrastructure idéale** et des surfaces supplémentaires pour développer les activités de la plateforme
- **Une salle utilisateur** équipée de 6 postes pour vous accueillir durant la durée de votre projet
- **La capacité d'accueil d'une équipe** (4-5 personnes)
- **La capacité de mise en place de nouveaux équipements**



# Accès en autonomie au NGS



# Les prix NGS projets France Génomique

- **Pour les projets inférieurs à 10 runs et ayant été soumis dans le cadre du programme FG**
  - **Un effort de PlaGe sur le métabolisme de base**
  - **La prise en charge de CDD PlaGe et bioinfo sur le programme FG**
  - **La réorientation de crédit d'équipement en maintenance**

**Tarifs pour 1 ligne incluant les réactifs de séquençage et le MDB**

**Hors préparation des bibliothèques et Main d'œuvre**

	Prix €HT hors FG	Prix €HT FG
HISEQ 2000	2040	1740
MISEQ	1850	1500

**-4800€HT  
Par run**

# LES LEVIERS DES 5 PROCHAINES ANNÉES

## Ce qui est acquis

- **La 2<sup>ème</sup> Phase du programme France Génomique (2014-2020)**
- **La relabellisation pour 4 ans (2013-2017) en tant que Plateforme Stratégique INRA = métabolisme de base**
- **Le programme "Région" (2013-2014) avec un NGS 3<sup>ème</sup> génération financé**
- **Des programmes de développements technologiques et méthodologiques en partenariat**
- **Le bâtiment source d'ambition**



# Les demandes en cours

- **La participation à plus d'une 20 aines de demandes de financements pour des projets de types ANR, Européens, ...**
- **Un demande de poste INRA IE bioinformatique pour 2014,**
- **Le dépôt d'un dossier CPER soutenu par le Centre INRA (2014-2020)**

**Demande GeT-PlaGe CPER 2014-2020**

<b>Analyse de mutations et de variations structurales</b>	<b>1040000</b>	<b>2015 - 2018</b>
<b>Analyse de l'expression des ARN et miRNA</b>	<b>260000</b>	<b>2016</b>
<b>Analyse de méthylation</b>	<b>400000</b>	<b>2016</b>
<b>Quantification d'événements rares</b>	<b>200000</b>	<b>2017</b>
<b>Préparation des échantillons</b>	<b>250000</b>	<b>2017</b>
<b>Single Cell</b>	<b>300000</b>	<b>2018</b>
<b>Séquençage 4ème Génération</b>	<b>900000</b>	<b>2018</b>
	<b>3350000</b>	

# L'objectif de cette journée

- **Des réflexions**
- **Des interrogations**
- **Des propositions**
- **Lâchez vous!**



**GeT**  
Génome et  
Transcriptome

## Les nouveautés sur GeT-PlaGe

# Qiagen PyroMark

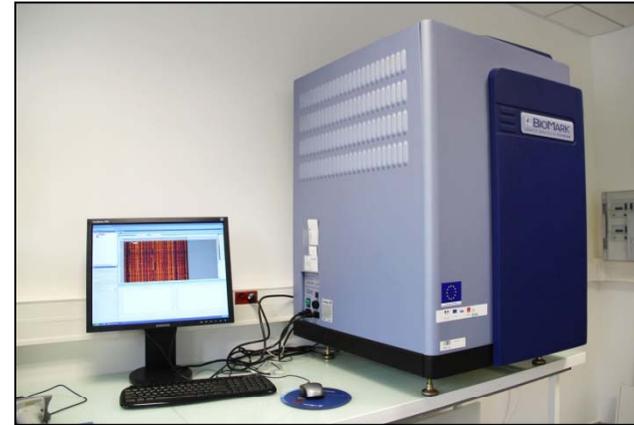
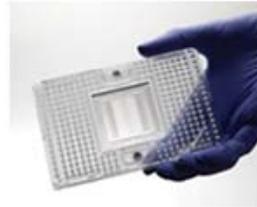
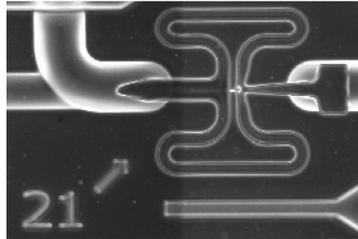
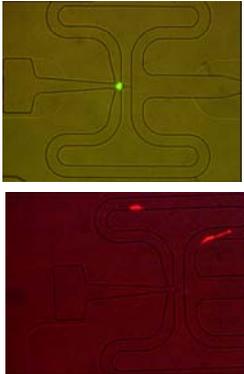
**Qiagen PyroMark : pyroséquenceur, 100 à 200 pb**

## **Applications**

- ✓ **Quantification d'allèles**
- ✓ **Analyses de méthylation**
- ✓ **Détection de SNP**
- ✓ **Identification microbienne**
- ✓ **Validation de données NGS**



# Etudes de cellules uniques : C1 (Fluidigm)



**Capture de 96 cellules et préparation du matériel :**

**3 types de puces pour la QPCR :**

**-5 à 10  $\mu\text{m}$**

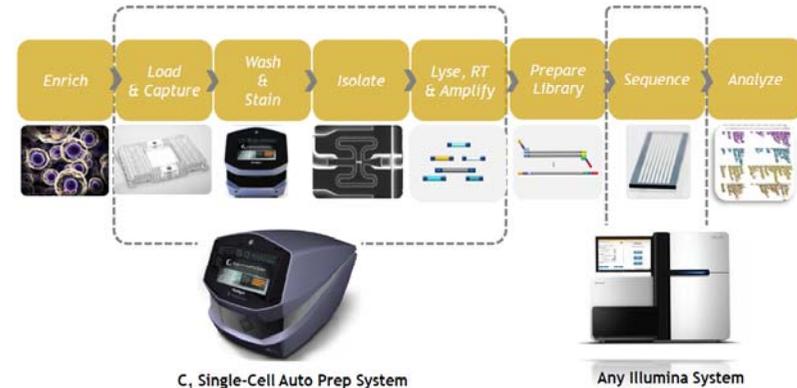
**-10 à 17  $\mu\text{m}$**

**-17 à 25  $\mu\text{m}$**

**2 types de puces pour le séquençage NGS :**

**-RNAseq (disponible)**

**-whole genome (à venir)**



Fluidigm 

# Séquençage NGS : MiSeq

**MiSeq v2**



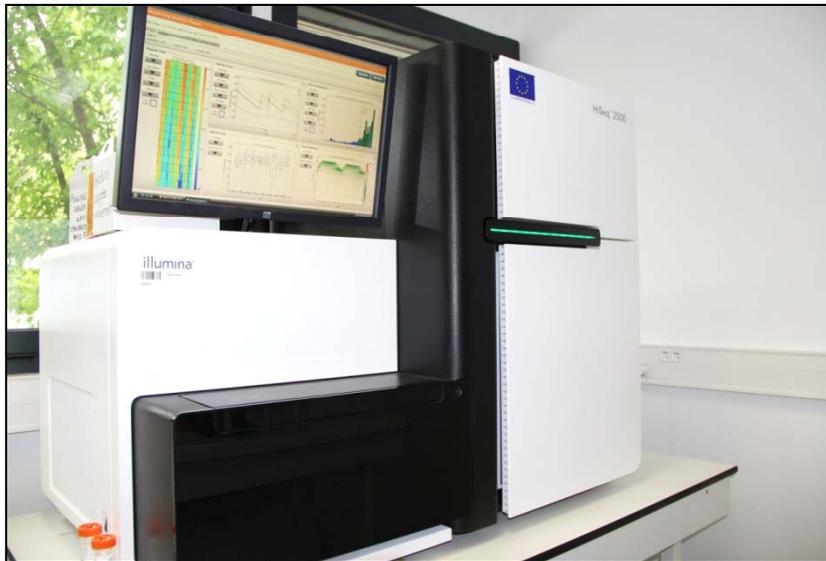
**Séquençage par synthèse**  
**Longueur max: 2 x 250 pb**  
**Débit max : >7 GB**  
**Temps de run : 39 h**

**MiSeq v3**



**Séquençage par synthèse**  
**Longueur max: 2 x 300 pb**  
**Débit max : >15 GB**  
**Temps de run : 65 h**

# Séquençage NGS : HiSeq2500



**2 modes :**

✓ **High output (= HiSeq2000)**

✓ **Rapid mode :**

**2 flowcells, 2 lanes/ flow cell**

**Longueur : 2 x 150 pb**

**Débit : >90 GB/flowcell**

**Temps de run : 40 heures**

# Protocoles NGS proposés

**Reséquençage génome total (préparation automatisée sur TECAN EVO200) :**

- ✓ TruSeq DNA v2 (Illumina)
- ✓ NEXTFlex PCR-free (Bioscientific)
- ✓ **TruSeq Nano (Illumina) : 200 ng ADN**

**Transcriptome (préparation automatisée sur TECAN EVO200) :**

- ✓ TruSeq RNA v2 (Illumina)
- ✓ **TruSeq Stranded RNA (Illumina)**

**Séquençage *de novo*, recherche de variants structuraux, CNV :**

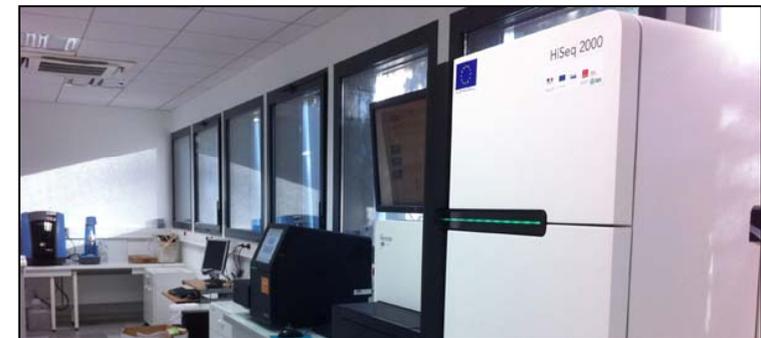
- ✓ **Nextera Mate pair (Illumina), inserts de 3 à 8 kb**

**Analyses épigénétiques :**

- ✓ **NEXTFlex Bisulfite-seq kit (Bioscientific)**
- ✓ **MeDIP-seq (Bioscientific)**

**Séquençage de portions de génomes (protocoles « maison ») :**

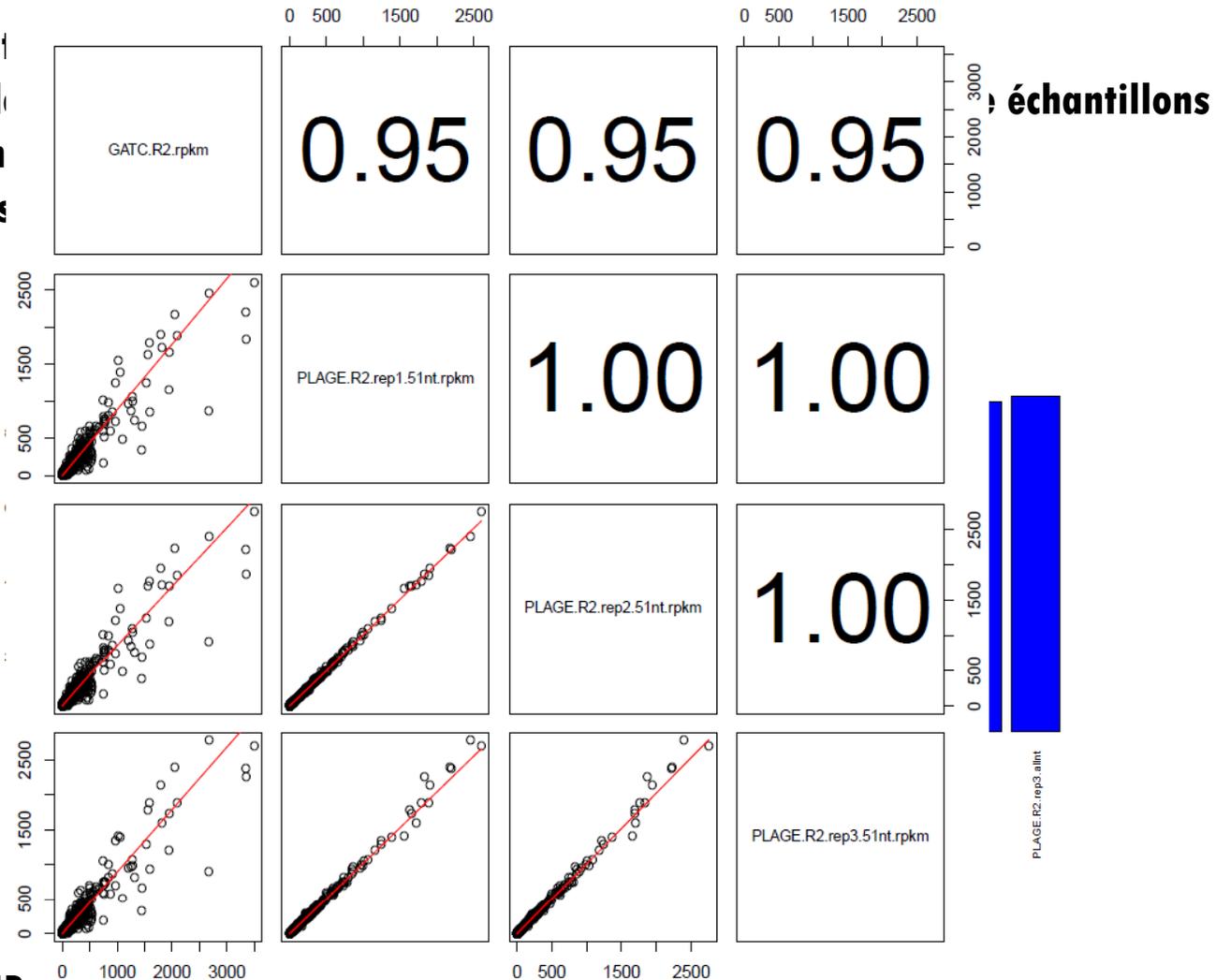
- ✓ **RRL (Reduced Representation Library)**
- ✓ **RAD-seq (Restriction site Associated DNA sequencing)**
- ✓ **Amplicons**



# RNAseq orienté

## Tests pour validation

- ✓ Comparaison de
- ✓ 3 réplicats tech
- ✓ Analyse des rés



Projet financé par la FR AIB

# Le programme

- ✓ 10h30-10h50 : **Etude du méthylome spermatique porcin par des approches MeDIP-seq et pyroséquençage** (Hervé Acloque, INRA LGC)
- ✓ 10h50-11h10 : **Séquençage mate-pair pour la détection de variants de structure** (Thomas Faraut, INRA LGC)
- ✓ 11h10-11h30 : **Analyse de méthylation de l'ADN dans l'embryon de poulet par séquençage bisulfite** (Frédérique Pitel, INRA LGC)
- ✓ 11h30-11h50 : **Caractérisation de SNPs par RAD-seq pour l'étude de la coloration d'un oiseau insulaire** (Yann Bourgeois, Université de Toulouse EDB)
- ✓ 11h50-12h10 : **Validation de la technologie de séquençage MiSeq dans l'analyse de métagénome en relation avec les maladies métaboliques** (Jérôme Lluch, Vaiomer SAS)
- ✓ 12h10-12h30 : **Analyse de communautés bactériennes complexes : du 454 au MiSeq** (Laurent Cauquil, Sylvie Combes, INRA TANDEM)
- ✓ 12h30-12h45 : Discussion
- ✓ 12h45-14h00 : Repas convivial

# Le programme

- ✓ 14h00-14h20 : **Séquençage MiSeq de huit mitogénomes du bivalve *Macoma balthica* pour l'étude de la nature des barrières au flux de gène en Europe** (*Eric Pante*, Université de La Rochelle LIENSs)
- ✓ 14h20-14h40 : **CARTOSEQ: Identification en masse des variants génétiques influençant les caractères de production chez les trois principales races laitières françaises** (*Diane Esquerre*, INRA LGC GeT-PlaGe)
- ✓ 14h40-15h00 : **Génotypage par séquençage de SNP de Pois : développement d'une approche par séquençage HiSeq2000 d'ADN génomique** (*Gilles Boutet*, INRA IGEPP)
- ✓ 15h00-15h40 : **Hétérogénéité des populations de cellules souches pluripotentes de lapin et d'Homme** (*Pierre Savatier*, INSERM ICSC)
- ✓ 15h40-16h00 : **Étude de l'expression allèle-spécifique de gènes impliqués dans la réponse au stress hydrique chez le tournesol hybride : comparaison de la qPCR Allèle Spécifique et du PyroMark** (*Baptiste Mayjonade*, INRA LIPM)
- ✓ 16h00-16h30 : Discussion