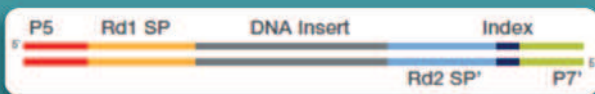


Séquençage Haut-Débit : HiSeq 2000 et HiSeq 2500 (Illumina)

Work Flow



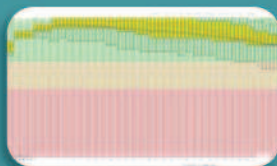
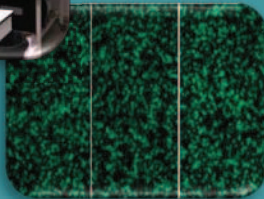
**Préparation des
bibliothèques**



avec
automatisation
sur robot Tecan
EVO200



**Séquençage
par synthèse
(SBS) sur HiSeq
2000 ou 2500**



**Analyse qualité
des données,
mise à disposition**

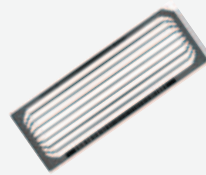
ng6.toulouse.inra.fr

PROJECTS RUNS DOWNLOAD

Spécifications

High Output - HiSeq 2000 ou 2500

Run : 11 jours



- 2 Flowcells, 8 lanes / flowcell
- **Paired-End**
- 2 x 100 pb max
 - ⇒ **> 300 millions de reads** / lane
 - ⇒ **240-300 Gb** / flowcell
- Multiplexage bibliothèques possible

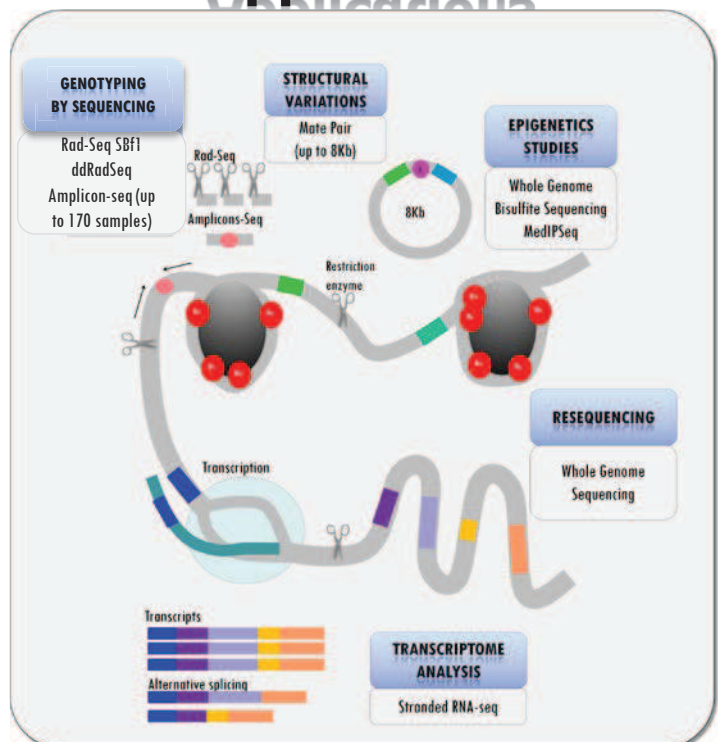
Rapid Run - HiSeq 2500

Run : 40h



- 2 Flowcells, 2 lanes / flowcell
- **Single-Read** ou **Paired-End**
- 2 x 150 pb max
 - ⇒ **> 90 Gb** / flowcell
- Multiplexage bibliothèques possible

Applications

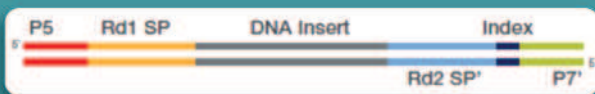


Séquençage Haut-Débit : MiSeq (Illumina)

Work Flow



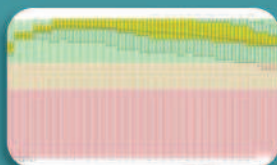
**Préparation des
bibliothèques**



avec
automatisation sur
robots Tecan
EVO200 et EVO150



**Séquençage
par synthèse
(SBS) sur MiSeq**



**Analyse qualité
des données,
mise à disposition**

ng6.toulouse.inra.fr

PROJECTS RUNS DOWNLOAD

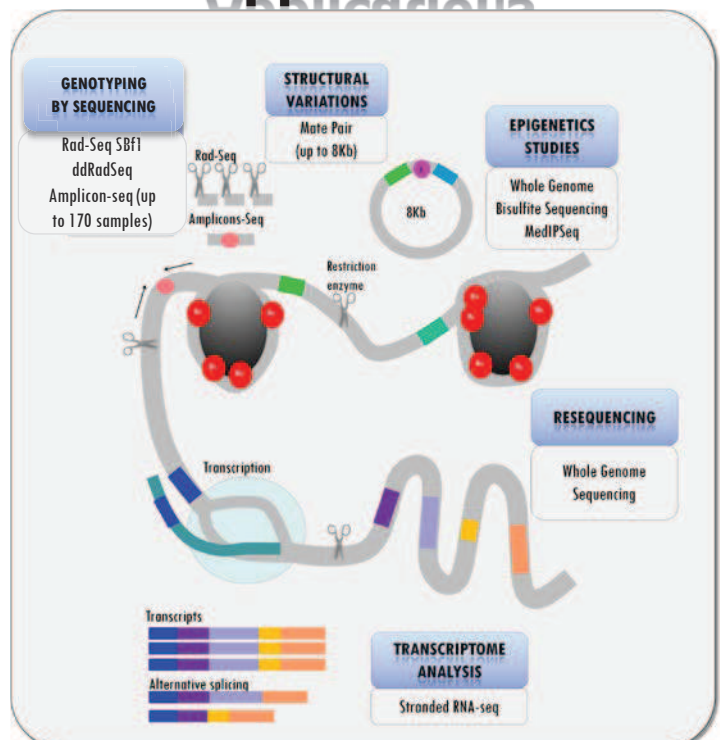
Spécifications



1 Lane
1 Flowcell
Multiplexage possible

- ✓ Run **2x250 pb** version **V2** → **39h**
Jusqu'à **8 Gb** de données
20 Millions de séquences
- ✓ Run **2x300 pb** nouvelle version **V3** → **65h**
Jusqu'à **15 Gb** de données
40 Millions de séquences

Applications



Génotypage, PCR quantitative & Digital PCR : BioMark (Fluidigm)

Work Flow



ARN \Rightarrow Retro Transcription



Pré-amplification

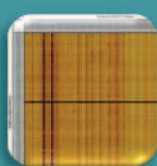
Pipetage dans
Dynamic Array



Chargement de la
puce dans l'IFC



Run sur
Biomark



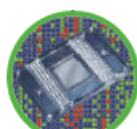
Analyse des données

Spécifications



- Puce 48x48 puits (2304 réactions/run)
- Puce 96x96 puits (9216 réactions/run)
- Digital PCR (48.765 réactions/run)
- Volumes de réaction < 10 nL
- 3 puces/jour

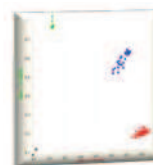
Applications



Genotyping

➤ Génotypage

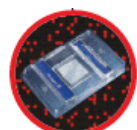
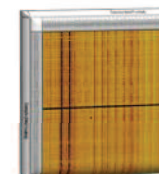
Sondes Type TaqMan, KASPAR
1.5 μ L d'ADN à 2-10 ng/ μ L



Gene Expression

➤ PCR Quantitative

Intercalants Type EvaGreen,
SYBRGreen
Sondes Type TaqMan, UPL ...
Pré-Amplification : 1.3 μ L de
cDNA à 5ng/ μ L



Digital PCR

➤ Digital PCR

Détermination très précise du
nombre de copies



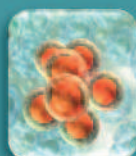
Tarifs

Applications	Puces FLDM	Coût total HT 2014 avec préamp. (publics / privés)	Coût / point (publics / privés)
Génotypage*	48.48 96.96	475 € / 805 € 745 € / 1085 €	0.21 € / 0.35 € 0.08 € / 0.12 €
PCR quantitative*	48.48 EvaGreen 96.96 EvaGreen	600 € / 970 € 1185 € / 1545 €	0.26 € / 0.42 € 0.13 € / 0.17 €
Digital PCR (en cours de validation)	48.765	344 € / -	

* Une pré-amplification est recommandée avant le passage sur le BioMark
Les prix n'incluent pas les prix des amorces, sondes et échantillons, ni de la formation

Analyses sur cellule unique : C1 (Fluidigm)

Work Flow



Isolation et
enrichissement



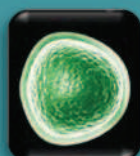
Pipetage dans la
C₁ Array



Chargement et
coloration dans le **C1**



**Capture des
cellules uniques**



Visualisation / microscopie



Lyse, RT, pré-amplification
spécifique et récupération



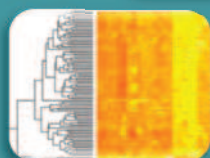
Pipetage dans la
Dynamic Array



Chargement
de l'IFC



**Run sur
Biomark**



Analyse des données

Spécifications

- **Matériel de départ :**
 - ✓ Cellules en suspension isolées à partir de FACS ou en culture
 - ✓ Taille : **5-25 µm**
 - ✓ Concentration : ≈ 200 K cells/mL
 - ✓ Suspension homogène et sans agrégat
- **Capture de 96 cellules**
- **3 types de puces** pour la QPCR :
 - ✓ 5 à 10 µm
 - ✓ 10 à 17 µm
 - ✓ 17 à 25 µm

Applications

- **Analyse d'expression de gènes sur cellules uniques**
- **Régulation de l'expression :**
 - Single-Cell miRNA analysis
- **2 types de puces pour séquençage NGS :**
 - RNAseq (disponible)
 - Whole genome (disponible)

Tarifs

Applications	Coût HT 2014 (prix public)
Puce C1 seule (expression)	610 €
Puce d'analyse d'expression 96.96	850 €
Projets Agronomiques, autres applications	contacter PlaGe get-plage@genotoul.fr

Les prix n'incluent pas les prix des amorces et des échantillons ni de la formation

PyroMark® Q24 – Qiagen

Work Flow



Design des
amorces
d'amplification et
de séquençage



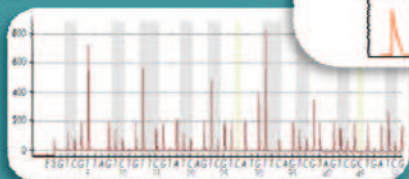
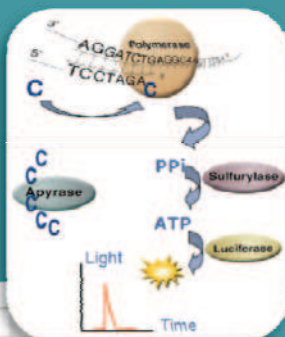
PCR
2h



Préparation des
échantillons sur la
Work Station
15 min



Pyroséquençage
10 à 120 min



Spécifications

- **Plaque Pyromark:**
 - ✓ Analyse de 1 à 24 échantillons par run.
- **Temps du run:**
 - ✓ 20 distributions = 24 minutes
- **Logiciels:**
 - ✓ Design d'amorces : PyroMark Assay
 - ✓ DesignAnalyse des résultats : PyroMark Q24

Applications

- **Analyse de mutations**
 - SNP
 - Insertions/Délétions
- **Quantification allèle-spécifique**
 - Fréquence SNP
 - Mutations di-, tri- and tétra-alléliques
- **Méthylation de l'ADN**
 - Îlots CpG
- **Identification Microbienne**

Tarifs

	Coût du Run (hors PCR et primers) public/privé	Coût / point public/privé
Avec réactifs de séquençage	92 € / 124 €	3.83 € / 5.16 €
Sans réactifs de séquençage	52 € / 84 €	2.15 € / 3.49 €

1 run = 1 plaque 24 puits