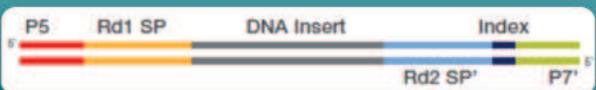


Séquençage Haut-Débit : HiSeq 2000 et HiSeq 2500 (Illumina)

Work Flow



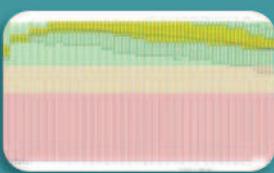
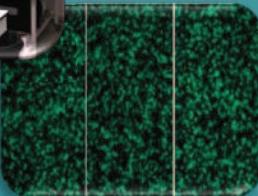
Préparation des librairies



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 librairies possible

Rapid Run - HiSeq 2500

Run : 40h

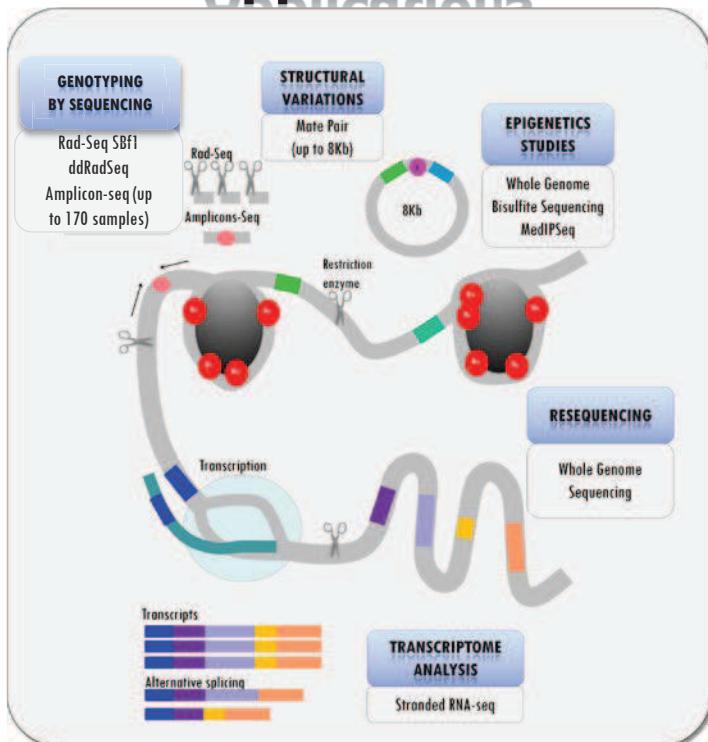


- 2 Flowcells, 2 lanes / flowcell

-Single-Read ou Paired-End

- 2 x 150 pb max
 - ⇒ **> 90 Gb** / flowcell
- Multiplexage librairies possible

Applications



Séquençage Haut-Débit : MiSeq (Illumina)

Work Flow

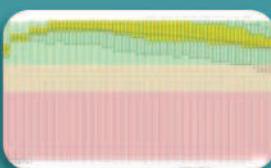
Préparation des librairies



avec
automatisation sur
robots Tecan
EVO200 et EVO150



Séquençage par synthèse (SBS) sur MiSeq



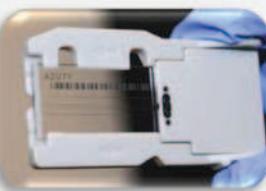
Analyse qualité des données, mise à disposition

ng6.toulouse.inra.fr

* PROJECTS RUNS DOWNLOAD



Spécifications



1 Lane
1 Flowcell
Multiplexage possible

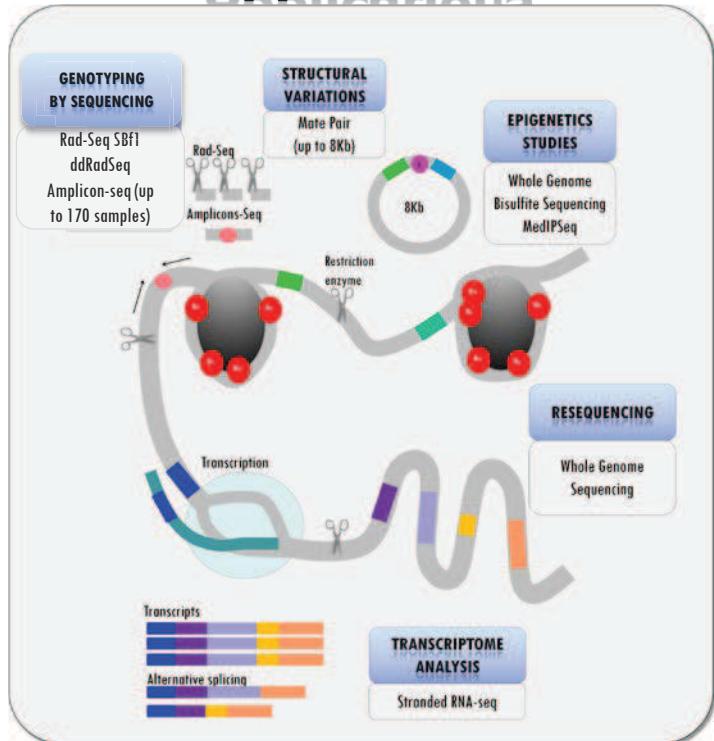
✓ Run **2x250 pb** version **V2** → **39h**

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



<http://get.genotoul.fr>

get-plage@genotoul.fr

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

Work Flow



ARN ⇌ Retro Transcription



Pré-amplification

Pipetage dans Dynamic Array



Chargement de la puce dans l'IFC



Run sur Biomark



Analyse des données

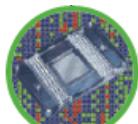
Tarifs

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

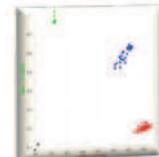
Applications



Genotyping

➤ Génotypage

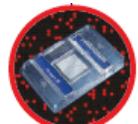
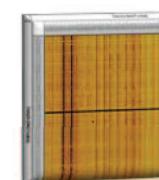
Sondes Type TaqMan, KASPAR
1.5 µL d'ADN à 2-10 ng/µL



Gene Expression

➤ PCR Quantitative

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



Digital PCR

➤ Digital PCR

Détermination très précise du nombre de copies



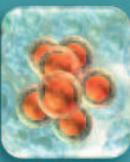
Applications	Puces FLDM	Coût total HT 2014 avec préamp. (publics / privés)	Coût / point (publics / privés)
Génotypage*	48.48 96.96	475 € / 805 € 745 € / 1085 €	0.21 € / 0.35 € 0.08 € / 0.12 €
PCR quantitative*	48.48 EvaGreen 96.96 EvaGreen	600 € / 970 € 1185 € / 1545 €	0.26 € / 0.42 € 0.13 € / 0.17 €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

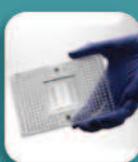
Analyses sur cellule unique : C1 (Fluidigm)

Work Flow

Isolation et enrichissement



Pipetage dans la C1 Array



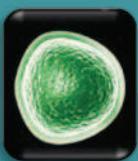
Chargement et coloration dans le C1



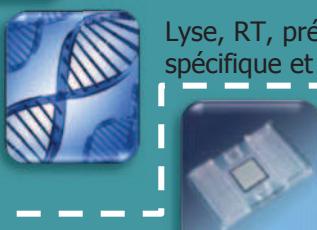
Capture des cellules uniques



Visualisation / microscopie



Lyse, RT, pré-amplification spécifique et récupération



Pipetage dans la Dynamic Array



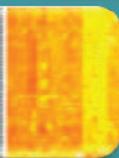
Chargement de l'IFC

Run sur Biomark

Analyse d'expression



Analyse des données



Spécifications

Matériel de départ :

- ✓ Cellules en suspension isolées à partir de FACS ou en culture
- ✓ Taille : **5-25 µm**
- ✓ Concentration : \approx 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 amores d'amplification et de séquençage

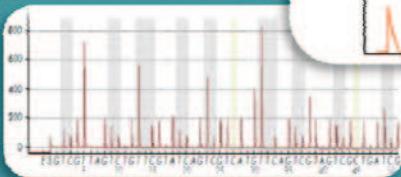
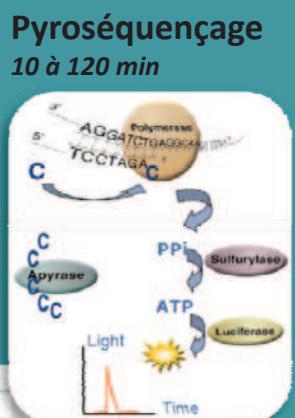


PCR
2h



Préparation des échantillons sur la Work Station

15 min



Spécifications

■ Plaque Pyromark:

✓ Analyse de 1 à 24 échantillons par run.

■ Temps du run:

✓ 20 distributions = 24 minutes

■ Logiciels:

✓ Design d'amores : 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

<http://get.genotoul.fr>

get-plage@genotoul.fr