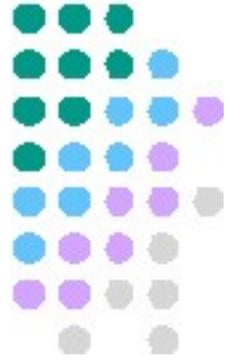


Plateau de Transcriptomique Quantitative-IFR150

Gazette des Utilisateurs



Une Gazette? Et oui cela continue...

Bonjour à tous,

Merci à tous ceux qui nous ont transmis leurs encouragements lors de l'envoi du numéro 1 de cette gazette.

Toujours dans le même esprit, vous trouverez dans ce numéro 2 des validations faites par les utilisateurs du Plateau vous permettant de faire des économies, de mieux gérer l'organisation de projets importants en QPCR. Une approche de dosage des miRNAs en QPCR conventionnelle vous est proposée. Comme vous pourrez le lire, la technologie PCR haut débit de chez Fluidigm s'avère être très intéressante pour le dosage des SNPs avec des sondes Taqman. En particulier lorsque les échantillons ne sont pas de bonne qualité. Enfin, nous avons ouvert une rubrique spécialement dédiée aux trucs et astuces trouvés par les utilisateurs pour l'analyse des données de QPCR issues du Biomark.

Le Plateau a maintenant intégré une nouvelle Plateforme toulousaine. Denis Milan, aidé par Véronique Leberre est le responsable de cette nouvelle structure : « L'évolution de la technologie rapproche de plus en plus génomique et transcriptomique. Les plateformes et plateaux toulousains se regroupent pour gagner en

lisibilité et vous apporter de façon coordonnée l'une des offres les plus complètes de France dans le domaine de la génomique et de la transcriptomique : différentes technologies de puces à ADN, PCR quantitative haut débit en microfluidique, technologie de génotypage adaptées à différents débits, séquenceurs classiques et nouvelles générations. Ce regroupement donne naissance à la plateforme **Géno-*me et Transcriptome*** de GenoToul, dont l'acronyme est GeT. GeT-PlaGe (INRA) et GeT-Biopuces (INSA), les deux plateformes IBiSA certifiées ISO9001, sont ainsi rejointes par GeT-Purpan et GeT-TQ, plateaux situés sur les campus des CHU de Purpan et Rangueil, ainsi que par GeT-TriX, plateau transcriptome du pôle INRA Toxalim de Saint Martin du Touch. [...] Même si chaque site garde une certaine autonomie de gestion, nous allons coordonner toujours plus nos actions, nos développements, nos démarches qualité et nos investissements. Le système d'information en place sur GeT-PlaGe sera déployé pour mieux partager l'information. Pour plus d'informations, n'hésitez pas à parcourir le nouveau site de GeT (<http://get.genotoul.fr>) présentant l'ensemble du matériel que vous pourrez trouver sur l'un ou l'autre de nos sites » -Denis Milan-

A Bientôt sur GeT-TQ....

N°2 Année 2010

Date de parution:
01 septembre



Sommaire :

- Eric Neau. Les microARN: cocci-nelles de la cellule. p2
- Julien Gonzalez, JJ Maoret. QPCR: Fast And Furious . p5
- Katia Feve. Fluidigm...les SNPs aussi!. p7
- JJ Maoret, Julien Gonzalez. QPCR: date limite de péremption? p9
- Marion Combes, Stephane Schaak et JJ Maoret. Logiciel Biomark QPCR Analysis: trucs et astuces. p12
- Annonces séminaires, meeting... p15
- Contacter les auteurs. p16

Eric Neau. Les microARN: coccinelles de la cellule.



Les microARN sont des ARN de 20-25 bases. Ils se fixent spécifiquement sur une séquence située en 3' des ARN messagers et ont un rôle important dans la régulation post-transcriptionnelle (dégradation des ARNm et/ou régulation négative de la traduction). Ils sont des marqueurs potentiels de maladies humaines ...comme les coccinelles qui régulent la vie ou la mort des pucerons.

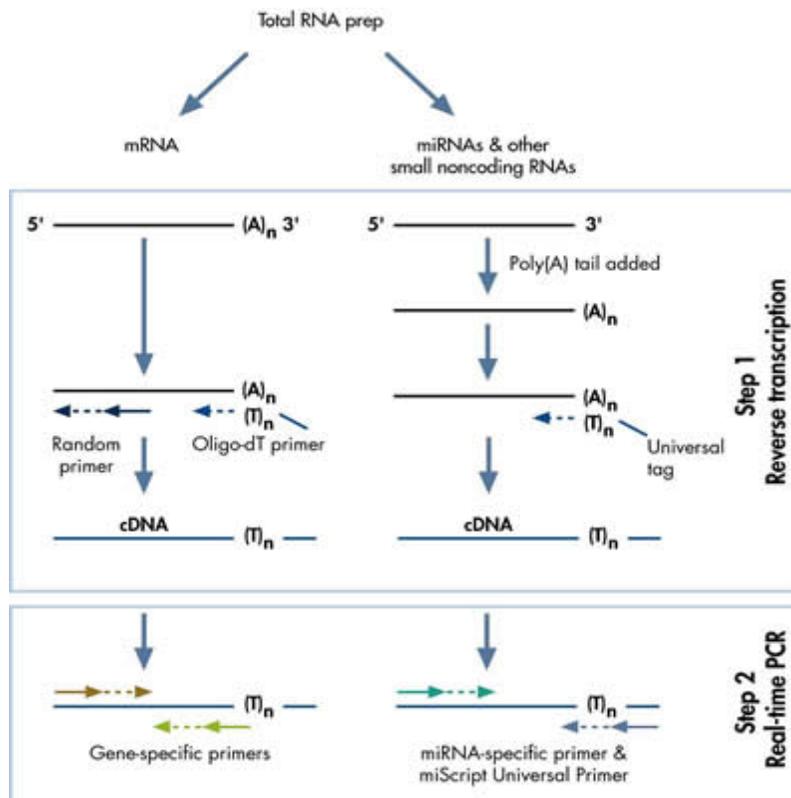
Pour pouvoir étudier l'expression de ces petits ARN dans différents types d'échantillons (tissus, cellules, sang, urine, salive), l'utilisation de kits spécifiques est indispensable.

Les 3 principaux fabricants de ces kits sont:

- 1-Applied Biosystems, basés sur la technologie "stemloop" et l'utilisation de fluorochromes/ quenchers. (VIC- TAMRA)
- 2-Qiagen
- 3-Exiqon qui utilise la technologie LNA.

Les 2 dernières utilisent le système Sybr Green, strictement identique à celui de la QPCR conventionnelle.

On va fixer pendant l'étape de la RT une queue polyA (Qiagen, Exiqon) à tous les ARN (r, m, mi, ...) ou "stemloop" ce qui va permettre d'utiliser des primers spécifiques des miARN (18-25 bases) et une sonde VIC/ TAMRA (ABI) pour la QPCR.



Dans un premier temps, j'ai éliminé la technologie "stemloop" d'ABI pour les mêmes raisons que la QPCR conventionnelle : les sondes et quenchers sont chers. Reste à choisir entre Qiagen et Exiqon.

Les miARN se différencient souvent seulement par quelques nucléotides, voire par un seul (exemple des variants hsa-let7a-1, -2, -3). Les primers classiques ne permettent pas toujours de bien les différencier (à moins de tenter de fastidieuses mises au point en changeant la température d'hybridation), idem pour les miARN ayant dans leur séquence de nombreuses bases GC.

Pour éviter ces mises au point longues et coûteuses, j'ai opté dans un deuxième temps pour Exiqon qui se distingue de Qiagen par l'utilisation de la technologie LNA (ou Locked Nucleic Acid).

Le sucre (ribose) qui constitue l'ossature ADN des primers LNA est modifié chimiquement : ceci va induire une plus grande "souplesse" de ces primers, qui vont pouvoir se fixer plus facilement dans les petits sillons des ADNc et avoir une excellente spécificité d'hybridation. Ceci permettra de quantifier l'expression de plusieurs variants dans un même échantillon en analysant les courbes de dissociation.

La technologie LNA est aussi très sensible, 5-20 ng seulement d'ARN totaux sont nécessaires pour la quantification ce qui est appréciable quand on travaille sur des échantillons humains très précieux.

Le protocole est identique à celui de la QPCR Sybr Green habituelle (même milieu réactionnel, même profil d'amplification), seuls les primers changent.

Exiqon a configuré un kit unique pour toutes les machines QPCR. Ces machines ne nécessitent pas toutes le même niveau de ROX pour normaliser le signal. Il faudra donc en ajouter plus ou moins selon les appareils de la plateforme (7500, 7900 ou StepOne). Pour une meilleure fiabilité, j'ai utilisé le ROX d'Invitrogen propriétaire de la marque ABI).

Il est préférable de travailler avec des ARN totaux au lieu d'échantillons enrichis en microARN. En effet, le pourcentage de miARN varie d'un individu à l'autre et en fonction de l'expression des autres ARN et plus particulièrement les messagers : les microARN sont indissociables de leur environnement !!!

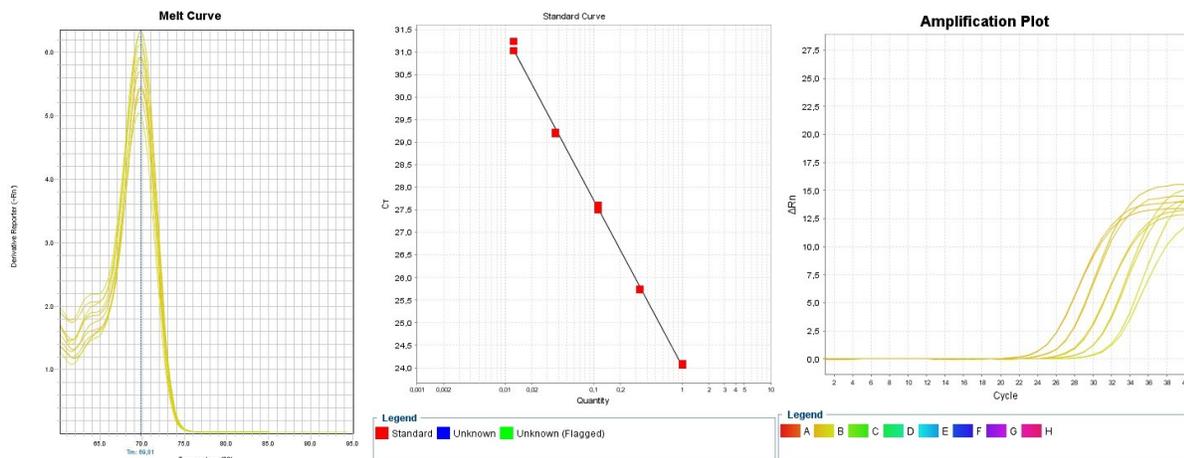
Il est donc nécessaire de vérifier que votre protocole habituel d'extraction (Trizol, colonnes Qiagen....) permet bien d'isoler des ARN vraiment totaux avant de commencer à travailler sur les microARN.

Je vous montre les résultats de l'expression de hsa-let 7a-1 à partir de 10 ng ARN humains extraits à partir d'urine (courbe d'amplification, courbe de dissociation, courbe standard avec dilution au 1/3) et avec une excellente reproductibilité.

Conclusion: la technologie LNA est parfaitement indiquée pour la quantification des miARNs (homme, souris et rat) avec un excellent rapport qualité/ prix et en évitant une mise au point longue et coûteuse. Cette technologie peut aussi être utilisée pour l'étude des SNP des miARN.

Info: Exiqon et Fluidigm se sont associés pour mettre au point des plaques 48 x 48 et 96 X 96 de miARN avec les primers LNA....Affaire à suivre....

Eric.



Préambule à tous les tests qui suivent:

L'ensemble de ces tests et validations ont été réalisés volontairement avec des consommables et des réactifs couramment utilisés par les utilisateurs du plateau. De nombreux autres fournisseurs existent sur le marché. Il ne s'agissait pas dans ces tests de trouver le fournisseur ayant le meilleur rapport qualité / prix mais de valider une technique avec les produits de vos fournisseurs habituels.

Par exemple, seuls les masters mix QPCR supportant le même profil de thermocyclage sont entrés dans la validation de la diminution du volume réactionnel. JJM

Julien Gonzalez, JJ Maoret. QPCR: Fast And Furious .

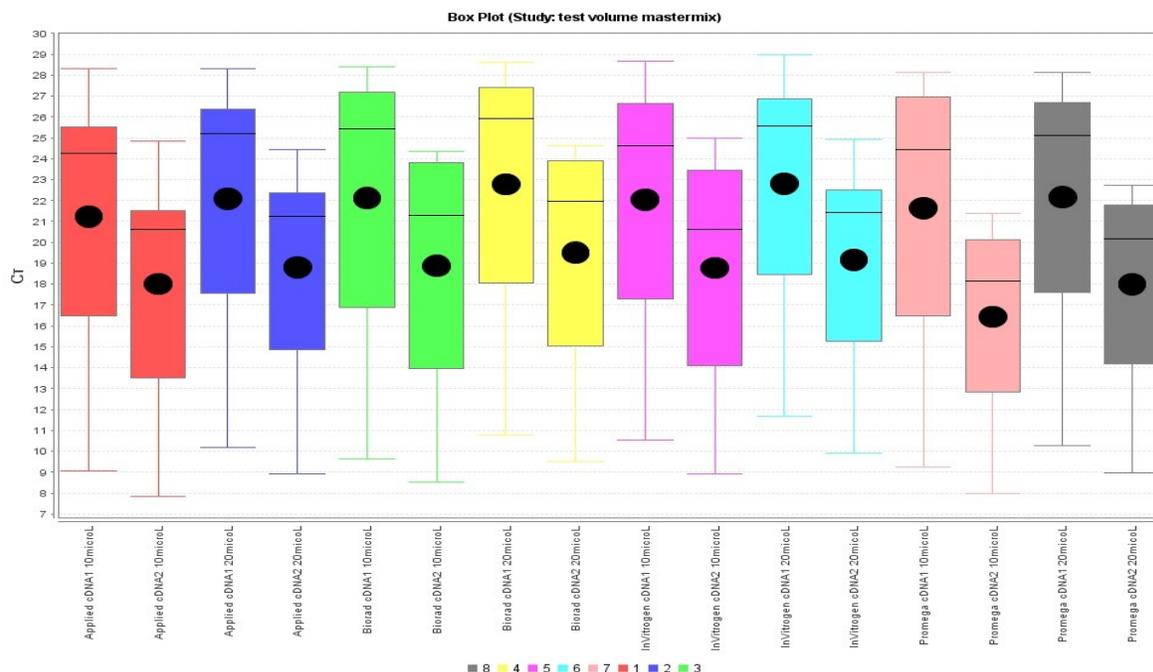
Comment réduire les coûts de la QPCR ? Peut-on utiliser moins de réactifs pour un même dosage ?

- Matériel utilisé.

Plaques Applied Fast Optical 96-well PN:4346906, Cover Applied Optical Adhesive Film PN :4311971, Master Mix Applied Fast SYBR Green PN:4385612; Master Mix Biorad SSo-Fast EvaGreen PN:172.5200; Master Mix Promega GoTaq PN:11782-200, ABI Stepone+ . ; Le choix des primers est fait avec Primer Express (Applied Biosystems), ou avec l'outil en ligne de IDT (<http://eu.idtdna.com/Home/Home.aspx>). La bonne efficacité des couples de primers a été vérifiée au préalable à l'aide d'une gamme de dilution de raison 2 et à l'aide du logiciel LinReg téléchargeable sur le web (<http://LinRegPCR.HFRC.nl>). L'analyse des résultats est réalisée à l'aide du logiciel DataAssist V2 de chez Applied Biosystems (gratuit et téléchargeable sur le site <http://www.appliedbiosystems.com>). Le profil de thermocyclage correspond au paramétrage Fast de chez Applied Biosystems: 95°C-2mn, 95°C-3s / 60°C-30s X40.

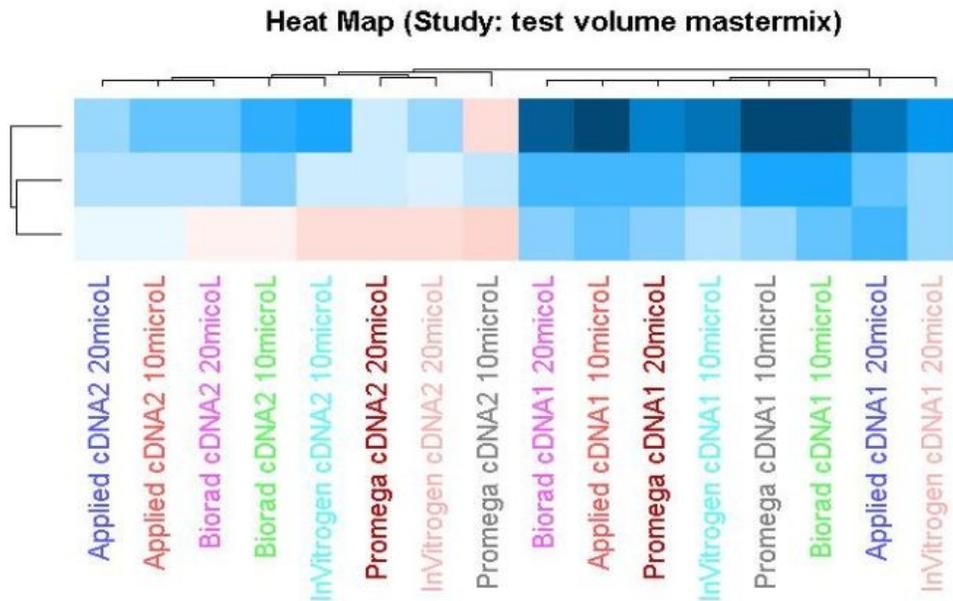
- Workflow.

2 plaques 96 puits sont préparées le même jour selon le même plan de plaque. Le volume réactionnel total est de 20µL pour l'une et de 10 µL pour l'autre. Dans les deux cas la concentration des oligos est de 300nM et la quantité de cDNA est de 10ng. Seuls les volumes de master mix changent (10 et 5 µL). Chaque dosage est réalisé en triplicate . Les deux plaques sont passées successivement sur le même stepone+. Une étude regroupant les deux fichiers .txt exportés des runs du stepone+ est crée dans la logiciel DatAssist. La validation des résultats, le choix du gène de normalisation, la représentation graphique des résultats, les ΔCT et $2\Delta\Delta CT$ sont réalisés dans ce logiciel.



- Résultats.

Pour tous les lots de cDNA, et pour tous les Master mix testés, les valeurs obtenues avec 5 ou 10µl de Master mix sont très proches (écart <0.5 CT) . Dans la représentation en Heat Map, on note : 1) une très bonne discrimination des 2 lots de cDNAs 2) que les Kits Applied et Biorad donnent des résultats légèrement plus homogènes que les autres kits sur un cDNA quand on diminue le volume réactionnel de 20 à 10µL.



- Discussion.

Utiliser une chimie « fast » avec un petit volume réactionnel peut réduire considérablement vos coûts et ceci sans diminution de la qualité et de la reproductibilité de vos résultats. De plus, sur le plateau la facturation est faite sur la base d'une réservation d'un créneau horaire de 2h30 et non sur la base du passage d'une plaque sur une machine de QPCR. En travaillant avec des réactifs « fast » vous pouvez passer 2 plaques pendant ce créneau : vous diminuerez donc par 2 vos frais....

Julien et JJM.

Katia Feve: Fluidigm...les SNPs aussi!

Au cours de l'été 2009, des tests ont permis la mise en place de la PCR quantitative sur la nouvelle machine Biomark/ Fluidigm de la plateforme génomique. En parallèle des tests de génotypage ont été réalisés.

Comme pour la PCR quantitative, cette technologie permet de réaliser un très grand nombre de génotypages simultanément : 96 individus x 96 SNP (soit 9216 génotypages) ou 48 individus x 48 SNP (2304 génotypages). Elle apporte un réel gain de temps et permet de réduire considérablement les volumes de réactifs.

	TAQMAN/ABI7900 (5µl)	Fluidigm	
	1 ind/ 1 SNP	1 ind/ 1 SNP	
Sondes TAQMAN 40X	0.125µl	0.0125 µl	10X sondes
Mix TAQMAN Universal	2.5µl	0.025 µl	100X mix

A l'origine cette technologie était validée uniquement avec des marqueurs Taqman. Nous avons donc dans un premier temps, comparé les résultats obtenus avec 96 sondes Taqman sur l'ABI7900 et sur le Biomark (les sondes ont été définies par Applied Biosystem = Assays-by-DesignSM)

Les ADN utilisés étaient de bonne qualité (ratio 260/280 >1.8) et utilisés à une concentration de 60 ng.µl⁻¹, suivant les recommandations de Fluidigm.

Nous avons obtenus des résultats strictement identiques entre les 2 technologies et une très grande reproductibilité dans les profils intra et inter-plaques (concordance des génotypes > à 99% entre les 2 technologies).

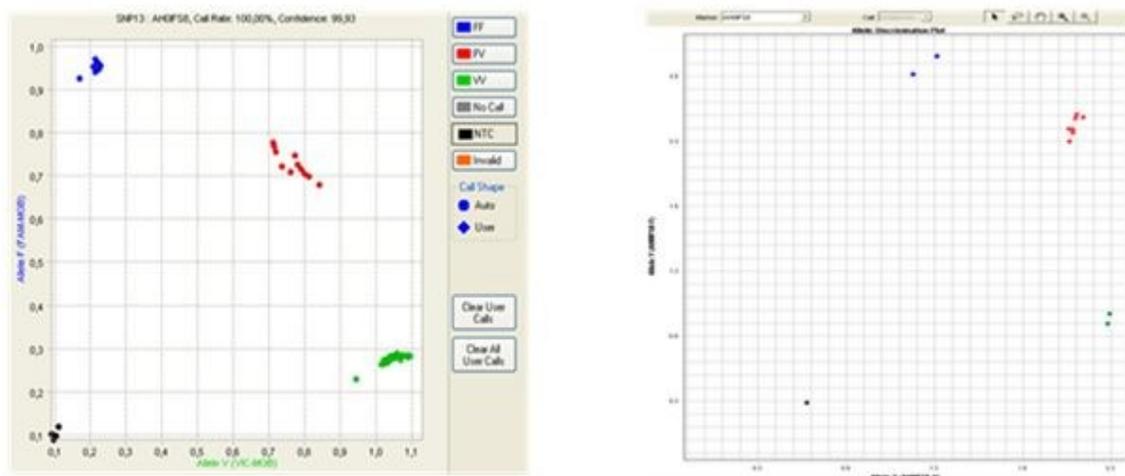


Figure 1 : Comparaison des génotypages obtenus sur l'ABI7900 et le Biomark

Malheureusement, tous nos échantillons ne correspondent pas à ces critères de qualité et de quantité. Pour parer à ce problème, nous avons donc réalisé sur des échantillons dilués une pré-amplification (dilution des échantillons afin de réduire les inhibiteurs de PCR ou concentration des échantillons $< 5\text{ng}\cdot\mu\text{l}^{-1}$).

La pré-amplification a été réalisée suivant le protocole défini par Applied Biosystem (**TaqMan® PreAmp Master Mix Kit**). Le volume final préconisé est de $5\mu\text{l}$ cependant au cours des tests il a été démontré que ce volume pouvait être réduit à $3\mu\text{l}$, pour des pré-amplifications à partir d'ADNg.

De nouveau, les résultats obtenus se sont révélés assez spectaculaires et parlent d'eux-mêmes.

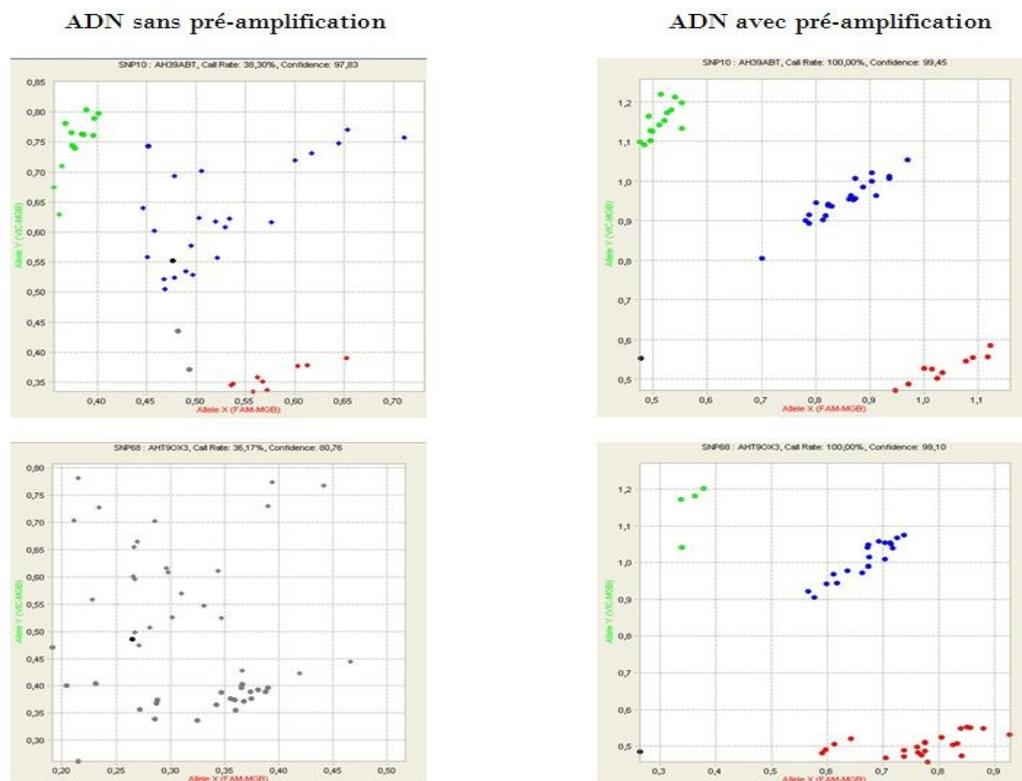


Figure 2 : Comparaison de 2 marqueurs Taqman, avant et après pré-amplification

En conclusion, la technologie Fluidigm est une excellente technique pour le génotypage de quelques dizaines à quelques centaines de marqueurs SNP. Elle présente de très nombreux avantages, facilité d'utilisation, rapidité, flexibilité, diminution des coûts.

Cependant elle n'était jusqu'alors validée qu'avec des sondes Taqman. Dernièrement, la plateforme génomique a testé l'utilisation d'un autre type de marqueurs (marqueurs KASP® développés par Kbioscience), basé sur le principe allèle spécifique. Le résultat de ces développements sera présenté lors de la **Journée d'échanges et de retours d'expériences autour de la technologie BioMark**, organisé par la plateforme génomique le *Jeudi 9 septembre 2010*.

Katia.

JJ Maoret, Julien Gonzalez: QPCR: date limite de péremption?

Vous êtes nombreux à me demander :

- Si le fait de préparer ses plaques pour la QPCR plusieurs heures avant leur passage dans une machine n'influence pas la qualité des résultats.
- Si lors d'une panne machine on peut garder sa plaque le temps que l'intervention soit faite.
- Si on peut passer une plaque que l'on a oubliée ou pas pu passer.
- En résumé : si on peut considérer comme fiables les résultats obtenus avec des plaques préparées longtemps avant leur passage dans une machine.

Nous allons donc regarder si la conservation des plaques préparées et conservées soit à température ambiante pendant plusieurs jours, soit à -20°C pendant plusieurs semaines influence la qualité des résultats.

1 – conservation à température ambiante des plaques prêtes :

Matériel utilisé.

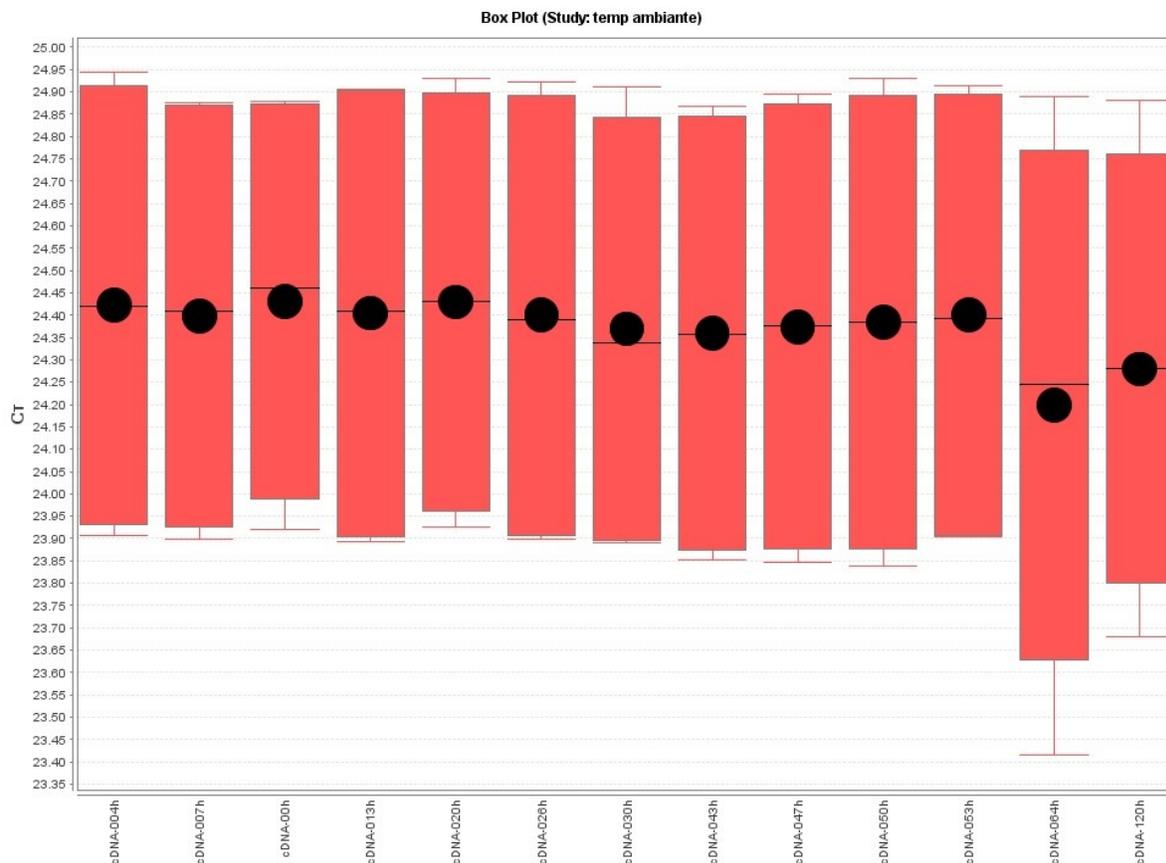
Plaques Applied Fast Optical 96-well PN:4346906, Cover Applied Optical Adhesive Film PN :4311971, Master Mix Applied Power SYBR Green PN:4367659, ABI 7900HT; le choix des primers est fait avec Primer Express (Applied Biosystems), ou avec l'outil en ligne de IDT (<http://eu.idtdna.com/Home/Home.aspx>). La bonne efficacité des couples de primers avait été vérifiée au préalable à l'aide d'une gamme de dilution de raison 2 et à l'aide du logiciel LinReg téléchargeable sur le web (<http://LinRegPCR.HFRC.nl>). Analyse des résultats est réalisée à l'aide du logiciel DataAssist V2 de chez Applied Biosystems (gratuit et téléchargeable sur le site <http://www.appliedbiosystems.com>). Le profil de thermocyclage correspond à paramétrage classique: (50°C-2mn), (95°C-10mn), (95°C-15s / 60°C-1mn) X40.

Workflow.

13 plaques 96 puits sont préparées le même jour selon le même plan de plaque. Le volume réactionnel total est de 20 µL, la concentration des oligos est de 300nM et la quantité de cDNA est de 10ng. Chaque dosage est réalisé en triplicate. Les plaques sont conservées à l'abri de la lumière (enveloppées dans papier d'aluminium) et à température ambiante (posées sur la paille). Pendant une période allant de 4h à 120h les plaques sont passées dans l'ABI 7900HT. L'analyse des runs est faite dans le logiciel SDS 2.3. Les mêmes paramètres d'analyse (ligne de base et threshold) sont appliqués pour tous les runs. Une étude regroupant l'ensemble des fichiers .txt exportés des runs de l'ABI 7900 HT est créée dans le logiciel DataAssist. Validation des résultats, choix du gène de normalisation, ΔCT , $2\Delta\Delta CT$ et représentation graphique des résultats sont réalisés dans ce logiciel.

Résultats.

Sur les 13 mesures effectuées à des temps différents, les valeurs de CT sont très stables. La valeur de la moyenne des CTs (point noir) est toujours très proche de la valeur de la médiane des CTs (trait noir dans chaque boîte).



Discussion.

Manifestement la conservation à température ambiante et dans le noir de plaques déjà préparées n'a pas d'influence sur les valeurs de différentiels (ΔCT ou $2\Delta\Delta CT$) jusqu'à 5 jours après le pipetage. Le master mix utilisé est robuste et l'activité de la Taq polymérase est stable. Mais attention, dans ce schéma de plaque, comme dans toute manip QPCR où l'on compare des résultats de runs effectués sur différentes machines à différents jours, il y avait toujours au moins 1 gène et 1 échantillon calibrateur...

2 - conservation des plaques prêtes à -20°C :

Matériel utilisé.

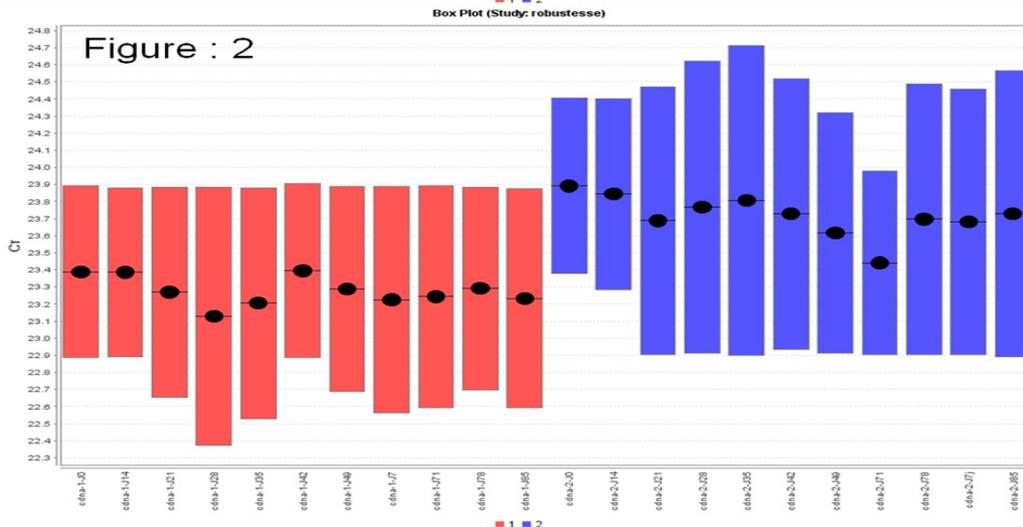
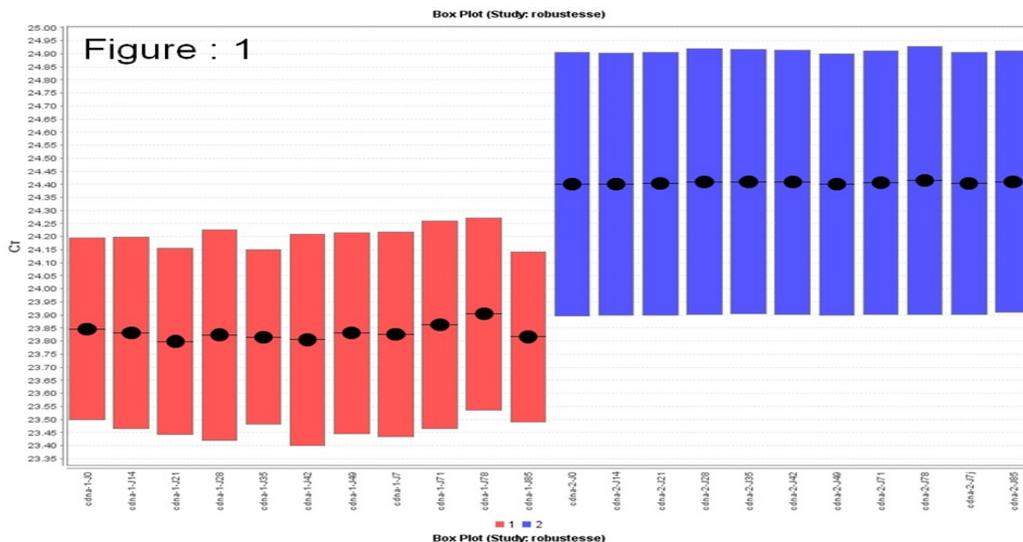
Plaques Applied Fast Optical 96-well PN:4346906, Cover Applied Optical Adhesive Film PN :4311971, Master Mix Applied Power SYBR Green PN:4367659; Master Mix Biorad IQ SYBR Green PN:170.8885; Master Mix Eurogentec MesaGreen PN:RT-SY2X-03, ABI 7500 Fast; le choix des primers est fait avec Primer Express (Applied Biosystems), ou avec l'outil en ligne de chez IDT (<http://eu.idtdna.com/Home/Home.aspx>). La bonne efficacité des couples de primers avait été vérifiée au préalable à l'aide d'une gamme de dilution de raison 2 et à l'aide du logiciel LinReg téléchargeable sur le web (<http://LinRegPCR.HFRC.nl>). Analyse des résultats est réalisée à l'aide du logiciel DataAssist V2 de chez Applied Biosystems (gratuit et téléchargeable sur le site <http://www.appliedbiosystems.com>). Le profil de thermocyclage correspond à paramétrage classique: (50°C-2mn),(95°C-10mn), (95°C-15s / 60°C-1mn) X40.

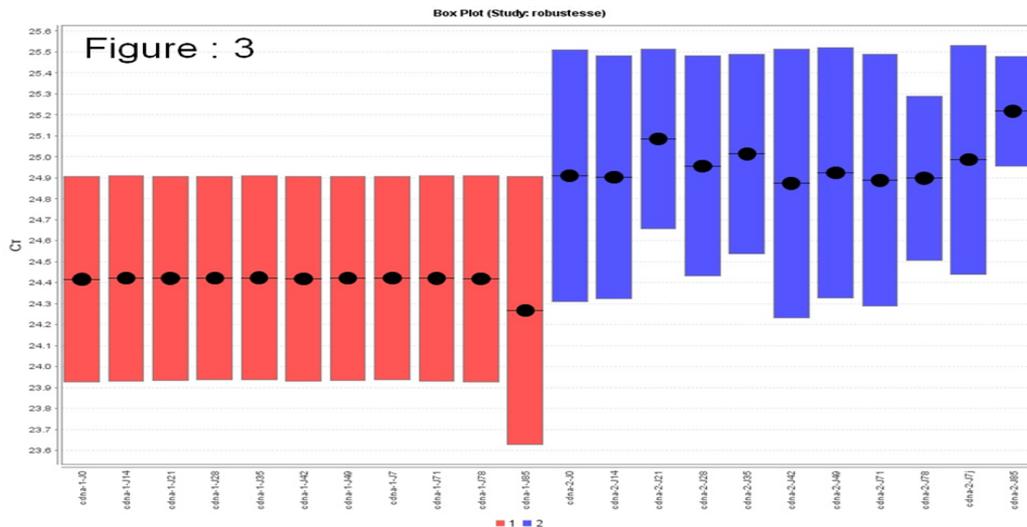
Workflow.

11 plaques 96 puits sont préparées le même jour selon le même plan de plaque. Le volume réactionnel total est de 20µL, la concentration des oligos est de 300nM et la quantité de cDNA est de 10ng. Chaque dosage est réalisé en triplicate . L'étude est réalisée sur 2 lots de cDNAs et 2 couples d'oligos . Une plaque est passée immédiatement pour obtenir les valeurs à J0. Les 10 plaques restantes sont congelées à -20°C et passées sur l'ABI 7500 fast à intervalle réguliers jusqu'à J85 après décongélation et centrifugation. L'analyse des runs est faite dans le logiciel SDS 2.0.1. Les mêmes paramètres d'analyse (ligne de base et threshold) sont appliqués pour tous les runs. Une étude regroupant l'ensemble des fichiers .txt exportés des runs de l'ABI 7500Fast est créée dans la logiciel DatAssist. Validation des résultats, choix du gène de normalisation, ΔCT , $2\Delta\Delta CT$ et représentation graphique des résultats sont réalisés dans ce logiciel.

Résultats.

L'ensemble des résultats montre une grande stabilité des valeurs obtenues quelque soit le master mix utilisé. La valeur de la moyenne des CTs (point noir) n'évolue pas ou très peu (0.3 CT) que ce soit pour le Power SYBR Green Applied(fig1), l' IQ SYBR Green Biorad (fig2) ou le MesaGreen Eurogentec (fig3). Ces très légères variations entre les plaques et les kit est facilement explicable par les pipetages (une pipette P10 et non pas un robot distributeur à été utilisée).





Discussion.

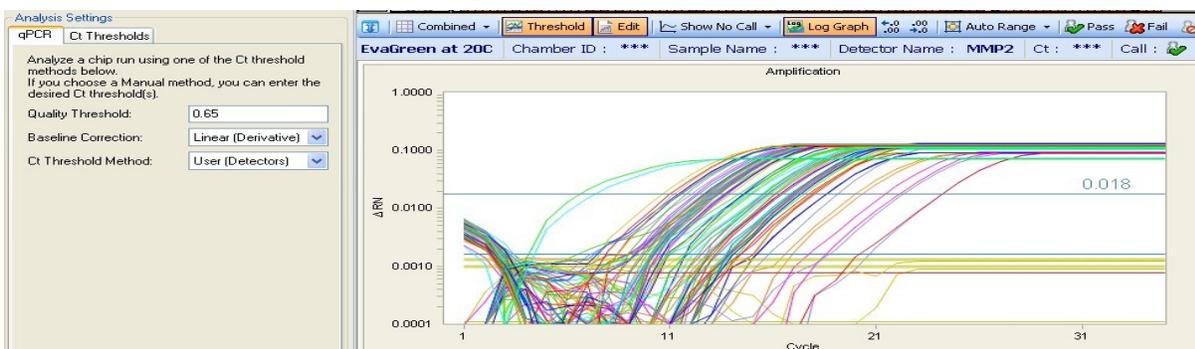
Lors de la gestion de projets QPCR « lourds » nécessitant de réaliser de nombreuses plaques, lorsqu'il y a saturation des réservations d'appareils QPCR sur le plateau, il est tout à fait possible de décaler la préparation des plaques et leurs passages sur une machine à l'aide d'une congélation. Les précautions habituelles devront être prises : échantillon calibrateur et gène normalisateur présent sur toutes les plaques si l'on veut comparer les résultats inter-plaques. En suivant la procédure du plateau pour la réservation des machines et le dépôt de projet qui vont être réalisés, il est donc tout à fait pensable que des équipes non localisées à Rangueil et voulant réaliser des expériences de QPCR sur un appareil du plateau, préparent plusieurs plaques et me les fassent parvenir (par exemple à l'aide de la navette IFR150 qui fait 2 fois par semaine un aller retour rangueil-Purpan).

JJM et Julien.

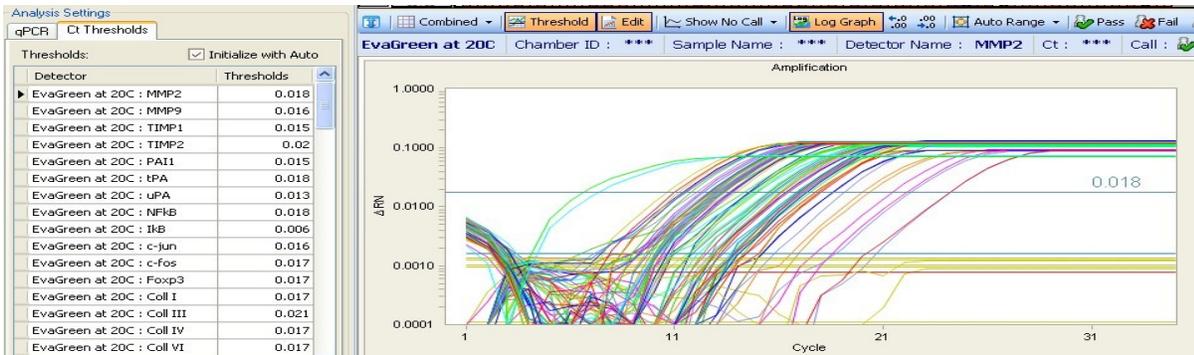
Marion Combes, Stephane Schaak, JJM: Logiciel « Fluidigm Real-Time PCR Analysis version 2.1 » Trucs et astuces .

1- Appliquer des paramètres identiques de Threshold à plusieurs chips ayant les mêmes assays. Quand plusieurs chips Fluidigm sont réalisées avec les mêmes couples d'oligos ou de sondes Taq-man, il est possible de chercher sur une première chip quel est le meilleur threshold pour chaque Assays et d'appliquer automatiquement cette valeur à toutes les autres chips. Voici la procédure : Dans cet exemple, il s'agit d'une Chip96x96 EvaGreen.

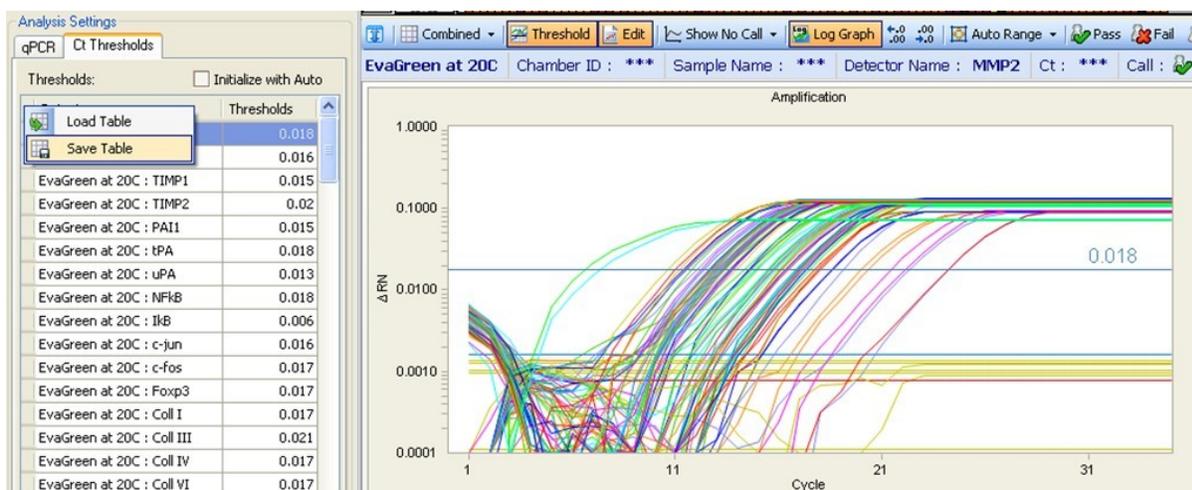
A – lancer une analyse avec ces paramètres:



B – pour corriger manuellement le threshold de chaque assays, cliquez sur l'onglet CT Thresholds, cochez la case « initialize with auto » pour démarrer la correction à partir des valeurs que le logiciel a automatiquement trouvées comme étant les meilleures pour chaque assay et relancez une analyse. Vous pouvez corriger individuellement chaque ligne en la déplaçant à l'aide de la souris. La nouvelle valeur de threshold apparaîtra dans le tableau.

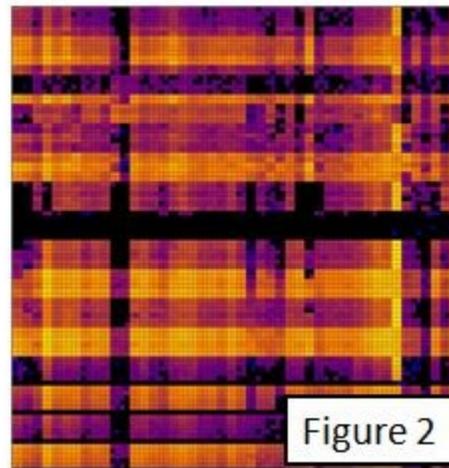
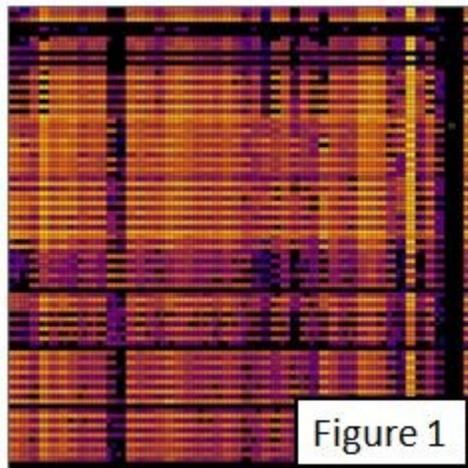


C – pour sauvegarder ces valeurs et les appliquer à toutes les chips suivantes, faites un clic droit sur l'angle supérieur gauche du tableau (à côté du mot detector). Un menu contextuel vous demande si vous voulez sauvegarder ces valeurs. Enregistrez-les au format xls. Pour les prochaines chips il vous suffira de cliquer au même endroit des tableaux pour chaque chip et de choisir « load », d'indiquer le chemin pour atteindre le fichier sauvegardé et toutes vos chips seront analysées avec les mêmes valeurs de threshold.

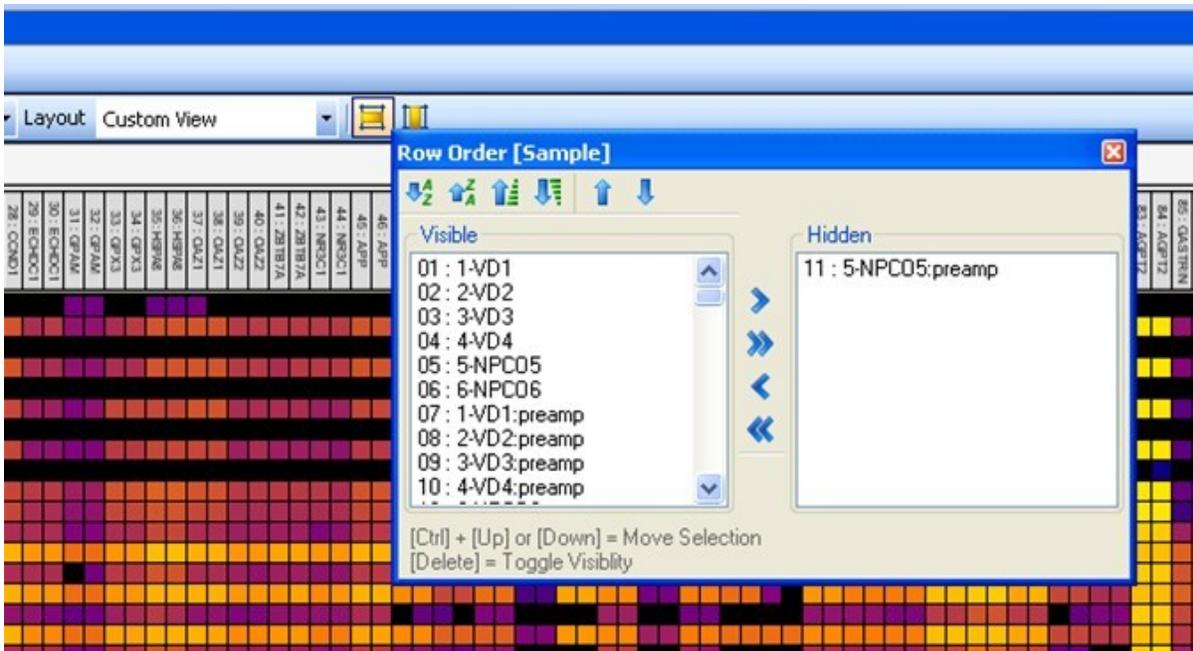


2- Réarranger la « Heat Map View ».

Pour rendre visuellement beaucoup plus parlant les résultats, il est intéressant par exemple de réarranger les échantillons dans l'ordre des groupes biologiques ou les assays selon la valeur de CT obtenue. Dans cet exemple, les échantillons et contrôles sont déposés de façon aléatoire sur la chip. L'image « heat map » montre bien qu'il ya des différences d'expression entre les échantillons (figure 1) mais ne permet pas de visualiser directement une différence de CT entre les groupes biologiques. Après réorganisations des échantillons en fonction de leur nature, on obtient une image beaucoup plus explicite (figure 2).



Pour réorganiser le plan de la plaque, il suffit d'utiliser la barre d'outils en haut de la heat map, d'activer « custom view » et de changer l'ordre des échantillons et des assays avec les flèches ou de les masquer.



La Plateforme Génomique de Toulouse vous propose une journée d'échanges et de retours d'expérience autour de la technologie Biomark Fluidigm.

10h – 12h30 l'Analyse d'expression

« Présentation de la technologie Fluidigm Biomark »

Olivier Bouchez – GeT-PlaGe

« Phénotypage du stress causé par la sécheresse chez le tournesol » *David Rengel – INRA*

« Étude du "snoRome" dans les hémopathies malignes. » *Wilfried Valleron – INSERM*

« L'implication de la chimiokine CCL7 dans le développement de la fibrose tubulointerstitielle rénale » *Julien Gonzalez- INSERM*

« Apport de la technologie Fluidigm à la détection de nouveaux marqueurs des complications de l'obésité » *Nathalie Viguerie – INSERM*

« Autres approches « haut débit » pour la quantification de l'expression » *Jean-José Maoret - GeT-TQ*

14h – 15h30 Le génotypage SNP

« Estimation des effets de mutations causales dans différentes populations porcines en France »

Juliette Riquet / Katia Fève - INRA

« Utilisation des sondes Kaspar sur le Fluidigm » *Sophie Ruzafa – GeT-PlaGe*

« Le futur sur le Fluidigm » *Olivier Bouchez – GeT-PlaGe*

Jeudi 9 septembre 2010 de 10 h – 16h
Salle de séminaire du pôle - Centre INRA de Toulouse Midi-Pyrénées
24 chemin de Borde Rouge 31320 Auzeville
Contact : genomique@toulouse.inra.fr

GenoToul 2010

Nouvelle Génération de séquençage : Promesses et Défis

10 Décembre 2010

Hôtel de Région Toulouse

Programme sur le site de La Génopole de Toulouse

<http://genopole-toulouse.prd.fr/>

Remerciements:

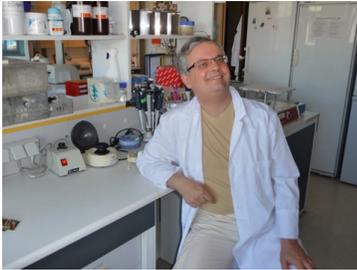
Un grand merci à Emmanuelle Uro-Coste pour avoir fait la relecture de ces articles et y avoir apporté les corrections indispensables et judicieuses, pour être toujours disponible et pour avoir fait ce travail ingrat avec un grand enthousiasme. JJM

Pour les joindre:



Katia Feve

INRA Laboratoire de Génétique Cellulaire
Chemin de Borde Rouge Auzeville BP 52627
31326 Castanet Tolosan
Tel : (33) 05.61.28.51.16
katia.feve@toulouse.inra.fr



Eric NEAU

INSERM-I2MR-U858 Equipe 5
Ingénieur d'étude INSERM
BP84225, 31432 TOULOUSE Cedex 4
Tel: 05 61 32 22 05
Fax: 05 62 17 25 54 Courriel:Eric.Neau@inserm.fr



Julien GONZALEZ

INSERM, U 858, equipe 5
PhD student
Tel : 05.61.32.37.39, Fax : 05.62.17.25.54
Avenue Jean Poulhès, TSA 84225
31432 TOULOUSE Cedex 4
e-mail : julien.gonzalez@inserm.fr



Marion Combes

INSERM U858 Equipe 4
Laboratoire de Recherche sur les Obésités
CHU Rangueil Bâtiment L4
1 avenue Jean Poulhès BP 84225, 31432 Toulouse cedex 4
e-mail : marion.combes@inserm.fr

Stéphane Schaak

Inserm U 858 - I2MR, Equipe 8
1 avenue Jean Poulhès
BP 84225, 31432 Toulouse Cedex
Tél : 05 61 32 22 12 e-mail : stephane.schaak@inserm.fr



Jean-José Maoret

Plateau GeT-TQ IFR150
Hôpital Rangueil, Bat L4, BP84225
31432 Toulouse Cedex 4
Tel : 05 61 32 56 38
Mèl : jean-jose.maoret@inserm.fr