



Unité spécialisée des technologies de pointe
Plateforme IPT-Omics

PÔLE GÉNOMIQUE

1. EXTRACTION/CONTRÔLE QUANTITÉ /QUALITÉ ACIDES NUCLÉIQUES

2. AMPLIFICATION ET MARQUAGE DES ACIDES NUCLÉIQUES

3. FRAGMENTATION DES ACIDES NUCLÉIQUES (NGS)

4. PURIFICATION DES PRODUITS PCR & DES LIBRAIRIES (NGS)

5. ANALYSE DU GÉNOME (CNV, SNP, InDel, génome de novo...)

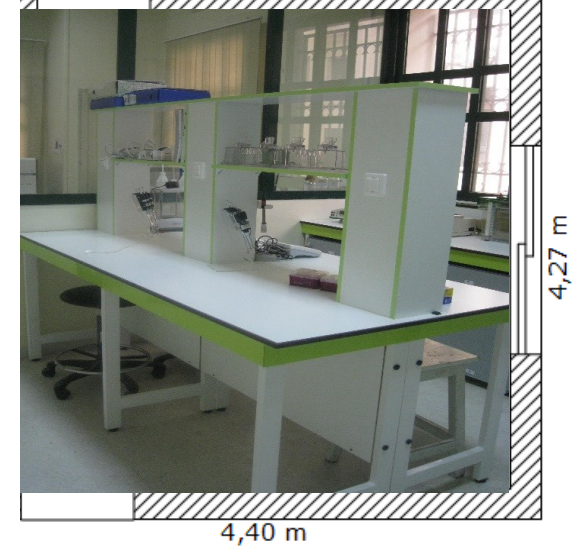
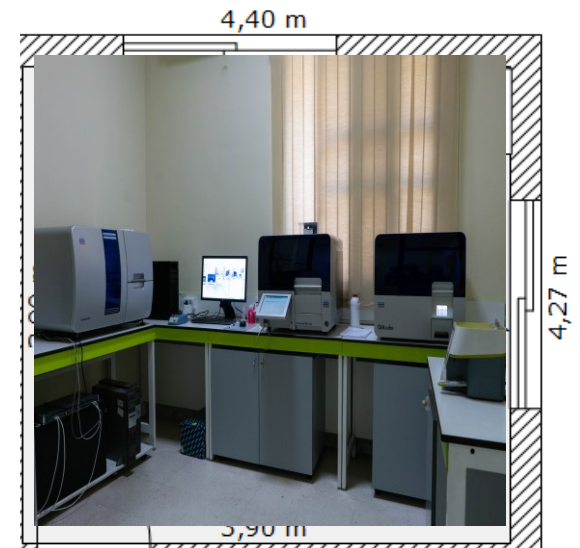
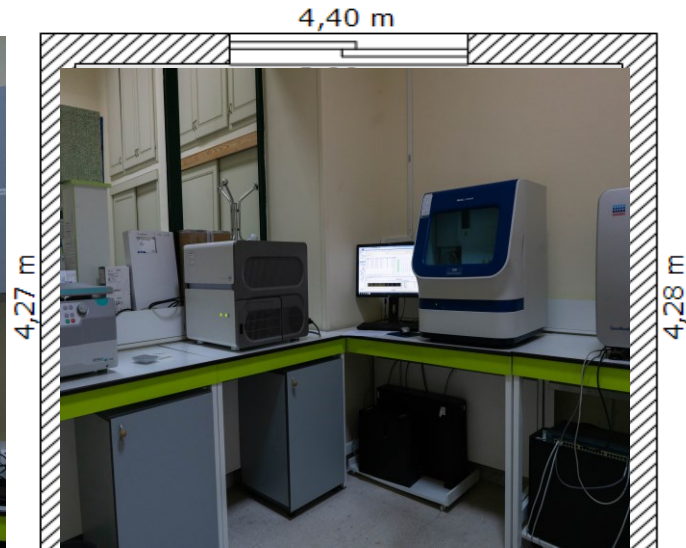
6. ANALYSE DU TRANSCRIPTOME (expression, détection de variants ...)

7. ANALYSE DE L'ÉPIGÉNOME

8. SUPPORT BIO-INFORMATIQUE

9. MANAGEMENT QUALITE ISO 9001

PLATEFORME IPT-OMICS



1. EXTRACTION/CONTRÔLE QUANTITÉ /QUALITÉ ACIDES NUCLÉIQUES

Qiacube	Extraction
Date d'installation	Novembre 2017
Application	Lyse de tissus, extraction et purification des acides nucléiques et protéines
Nature des échantillons traité	Cellules en culture, tissus congelés ou FFPE, biopsies, fluides (sang, lavages broncho-alvéolaires, liquide céphalorachidien, surnageants viraux, broyats des selles)
	http://www.qiagen.com



Qubit	Contrôle Quantité
Date d'installation	2020
Applications	Quantification d'ADN db, Quantification d'ADN sb, Quantification d'ARN, Quantification des miARN, Quantification des protéines
Nature des échantillons traité	Acides nucléiques et protéines
	http://www.invitrogen.com



Qiaxpert	Contrôle Quantité/Qualité
Date d'installation	Novembre 2017
Applications	Mesure des concentrations des ARN et ADN (A260) et de la pureté des échantillons (260/280 ratio) et (260/230 ratio)
Nature des échantillons traité	Acides nucléiques et protéines
	https://www.qiagen.com



QIAxcel Advanced	Contrôle Qualité
Date d'installation	Novembre 2017
Applications	Contrôle qualité de l'ADN génomique CQ de l'ARN total et de l'ADNc pour l'analyse RT-PCR et microarray Contrôle qualité des librairies NGS Génotypage bactérien, Analyse de fragments PCR, Test de pré-séquençage, Détection de mutation, Détection des allergènes alimentaires
Nature des échantillons traité	Acides nucléiques
	https://www.qiagen.com




2. AMPLIFICATION ET MARQUAGE DES ACIDES NUCLÉIQUES

Technologie	PCR Conventionnelle	PCR à Gradient	PCR quantitative	Marquage Thermique Agitation
Date d'acquisition:	2013	Septembre 2019	2015	2018
Applications	<p>Optimisation de la température d'hybridation pour un système d'amorce/matrice</p> <p>Optimisation de l'étape de dénaturation,</p> <p>Optimisation de la température d'élongation</p> <p>Amélioration du rendement des PCR des amorces marquées par fluorescence.</p>	<p>Optimisation de la température d'hybridation des amorces à l'ADN,</p> <p>Optimisation de l'étape de dénaturation,</p> <p>Optimisation de la température d'élongation</p> <p>Amélioration du rendement des PCR des amorces marquées par fluorescence.</p>	<p>Quantification absolue, Etude d'expressions de gènes,</p> <p>Analyse des Tm,</p> <p>Génotypage end point,</p> <p>Génotypage par HRM,</p> <p>Génotypage par utilisation de sondes marquées</p>	<p>Marquage d'ADN, d'ARN et de protéines, Croissance bactérienne dans les microtubes</p> <p>Purification plasmidique/d'ARN/d'ADN,</p> <p>Synthèse d'ADNc,</p> <p>Extraction des fragments d'ADN des gels d'agarose;</p> <p>Réactions enzymatiques (par exemple, digestion enzymatique de l'ADN, digestion de protéinase K et ligation), Transformation de souches bactériennes et de plasmides, Dénaturation d'ADN, d'ARN et de protéines, Réactions de lyse à 100°C et Homogénéisation de préparations</p>
Plus information	<p>https://www.thermofisher.com</p> <p>2720Thermocycleur</p>	<p>https://www.agilent.com</p> <p>SureCycler 8800</p>	<p>http://www.roche.com</p> <p>LightCycler 480 II</p>	<p>:https://online-shop.eppendorf.com</p> <p>Thermomixer C</p>



3 . FRAGMENTATION DES ACIDES NUCLÉIQUES (NGS)

	Fragmentation Physique
Date d'installation	Octobre 2019
Applications	Lyse de tissus, fragmentation d'acides nucléiques pour la fabrication de bibliothèques avant séquençage NGS (RNA-seq, DNaseq, CHIP-seq ..) par Sonication à froid.
Bioruptor UCD-200	
Pour plus d'informations	http://www.diagenode.com

	Fragmentation Enzymatique
Date d'installation	Octobre 2019
Applications	Fragmentation enzymatique d'acides nucléiques pour la fabrication de bibliothèques avant séquençage (DNaseq, RNA-seq, CHIP-seq..) par des kits spécifiques (illumina, Qiagen.....
KITS (enzyme et tampon) + Thermomixer	 <p>The diagram illustrates the enzymatic fragmentation workflow: 1. Fragmentation of DNA into large fragments. 2. End repair and A-tailing, where DNA ends are repaired and adenine (A) is added. 3. Ligation, where sequencing adapters are attached to the DNA ends. 4. PCR amplification, where the library is amplified.</p>
Pour plus d'informations	http://www.illumina.com http://www.qiagen.com

4. PURIFICATION DES PRODUITS PCR & DES LIBRAIRIES (NGS)

Purification Enzymatique (Exo-Sap)

The diagram illustrates the enzymatic purification process. It starts with 'Double-stranded DNA' and 'Nucleotides' (represented by colored blocks). 'Primers' (orange blocks) are added to the DNA. The process involves 'Add ExoSAP-IT Express reagent'. The reaction conditions are: 37°C, 4 min for treatment; 80°C, 1 min to inactivate. The enzymes 'Exo I' and 'SAP' are shown acting on the DNA. The final products are 'Intact PCR product' and 'Nucleosides + Inorganic phosphate (P)'. Below the diagram is a photograph of an Eppendorf ThermoMixer C machine.

Purification aux billes magnétiques

Date d'acquisition	Aout 2019	Octobre 2020
Applications	Purification des Produits PCR Purification des réactions de séquençage BigDye Purification des librairies NGS	Purification des Produits PCR Purification des réactions de séquençage BigDye Purification des librairies NGS
	Rack Magnétique pour billes plage de 1 à 4,5 µm de diamètre) Volume de travail optimal: 10 – <2 000 µL Support pour 16 microtubes (1,5 – 2 ml)	Support Magnétique (plage de 1 à 4,5 µm pour barettes PCR et plaques 96 puits (200 µl); Manuel et automatisable sur Tecan
	<p>DynaMag-2 Magnet</p>	<p>DynaMag-96 Side Magnet</p>

5. ANALYSE DU GÉNOME (CNV, SNP, InDel, génome de novo...)

	Séquençage SANGER capillaire
Applicati on	Séquençage, Re-séquençage, Analyse des fragments par Génotypage (microsatellites, MLPA, AFLP, LOH et SNP) à partir de la technologie sanger ABI 3500
Services	<ul style="list-style-type: none"> ○ Aide au plan expérimental ○ Design des primers, ○ Contrôles qualités des ADN, ○ Amplification des ADN ○ Purification ○ Réaction de séquence (ADN plasmidique et produit de PCR) ○ Injection ○ Analyse de séquences (Sequence analyser , Genemapper, sequencher, Bioedit...)
Livrables	Un rapport comprenant : les différents contrôles qualité et paramètres de séquençage, validation des analyses de fragments, les données primaires (bruts Fichiers.abi)



	PCR/qPCR
Applicatio ns	Génotypage (CNV, SNP) à partir des technologies de PCR classique (Applied 2720) ou de HRM (High Resolution Melting, LC 480 Roche).
Services	<ul style="list-style-type: none"> ○ Aide au plan expérimental ○ Design des primers ○ Acquisition et Normalisation des données (Dessin de plaques 96 puits) ○ Contrôles qualités des ADN, ○ Contrôle par séquençage des amplicons ○ Analyse par HRM (High Resolution Melting) ○ Analyse par PCR classique
Livrables	Un rapport comprenant : les différents contrôles qualité avec les données brutes non normalisées et normalisées et l'analyse du génotypage. les courbes de fusion, courbes amplification, valeur cp CC° et Tm



Séquençage Haut débit «NGS»
Externalisation

6. ANALYSE DU TRANSCRIPTOME (expression, détection de variants)

	Par qRT-PCR en temps réel (RNA-pcr)		Par NGS (RNA-seq)
Applications	Quantification de transcrits (mRNA) par qRT-PCR en temps réel (RNA-pcr) en révélation SYBR Green ou TaqMan par les technologies Light cycler (Roche) strip de 8 (200ul), Plaque LC480 (Roche)	Applications	Quantification des ARN (eucaryotes et procaryotes), analyse de variants d'épissage, découverte de nouveaux ARN (variants), analyse de polymorphismes, analyse d'ARN fusion (transplicing), transcriptome de novo (à partir de génome inconnu ou de génome connu non annoté)
Services	<ul style="list-style-type: none"> o Aide au plan expérimental 	Services	EXTERNALISATION
Livrables	Un rapport comprenant : Les différents contrôles qualité incluant les courbes de fusion, les courbes d'efficacité, tableau de quantification relative normalisée/gène de référence avec correction de l'efficacité, ratio normalisé ou quantification absolue/standard externe. Histogramme de surexpression et sous-expression	Livrables	<ul style="list-style-type: none"> - Fichiers fastq - Fichiers VCF

7. ANALYSE DE L'ÉPIGÉNOME

	Par qRTPCR en temps réel		NGS (small-RNA-seq)	Microarrays
Applications	Détection et quantification des miRNA (eucaryotes et procaryotes), analyse de petits panel de miRNA sur la plateforme light cycler (Roche) (technologie Taqman ou SYBR Green)	Applications	<ul style="list-style-type: none"> - DNA Methylation Analysis - DNA-Protein Interaction Analysis - Chromatin Accessibility Analysis 	
Services	Aide au design expérimental, Design des amorces spécifiques, choix des ARN de référence pour la normalisation des données Design de plaques 96 Extraction des ARN, quantification des ARN, contrôles qualités des ARN Analyse par amplification PCR sur Light cycler (Roche)	Services	EXTERNALISATION	
Livrables	Un rapport comprenant les différents contrôles incluant la qualité des ARN, des cDNA après reverse transcription, le pourcentage de miRNA détectés, variation intra-groupe et inter-groupe à l'aide de spike-in, la distribution des signaux sous format scatter plots, les données brutes et les données normalisées sous format xls.	Livrables	<ul style="list-style-type: none"> - Fichiers fastq - Fichiers VCF 	

8. SUPPORT BIO-INFORMATIQUE



Dans le cadre du projet PHINDaccess , notre institut a récemment acquis une nouvelle infrastructure bioinformatique comprenant des serveurs à Hautes Performances (HPC) :

- Un serveur maître, Quatre nœuds de calcul haute performance, Un serveur haute mémoire
- Un serveur de stockage et Un serveur de sauvegarde.

Cette infrastructure permettra d'augmenter nos capacités d'analyse des données Omiques.

9. MANAGEMENT QUALITE ISO 9001

Certification séquençage sanger (en cours)

Certification séquençage NGS(en cours)