Bdx

P11A1

Plateforme Génome Transcriptome de Bordeaux (PGTB)

CGFB - Centre de Génomique Fonctionnelle Bordeaux

http://www.pgtb.u-bordeaux2.fr/

• Responsables scientifiques

Pascal Sirand-Pugnet
sirand@bordeaux.inra.fr - 05 57 12 23 59

Patricia Fergelot-Maurin
patricia.fergelot@chu-bordeaux.fr - 05 56 79 87 23

• Responsables techniques

Séquençage : Christophe Hubert
05 57 57 47 89, christophe.hubert@u-bordeaux2.fr
Tilling : Cécile Brès
05 57 12 25 45, cecile.bres@bordeaux.inra.fr
Bioinformatique : Virginie Garcia
05 57 12 23 88, Virginie.Garcia@bordeaux.inra.fr
Génotypage : Franck Salin
05 57 12 28 06, salin@pierroton.inra.fr

• Descriptions et Activités

Mise à disposition de méthodes de séquençage, de génotypage et de tilling et le déploiement de nouvelles technologies pour mieux répondre aux besoins des biologistes impliqués en agronomie, en médecine ou en microbiologie. PF au service des recherches sur la structure, la composition et l'évolution des génomes et sur l'expression des gènes.
• GENOTYPAGE (site de Cestas-Pierroton) : Recherche de variations simple base (SNP), de microsatellites ou d'insertions/délétions par la technique la mieux adaptée au nombre d'échantillons et au type et au nombre de variations cibles : BeadXPress Goldengate - Veracode d'Illumina, spectrométrie de masse Sequenom, hybridation de sondes type Taqman ou Kspar sur LC480 Roche, HRM sur LC 480, Snap shot sur ABI 3730.
• SEQUENCAGE (site de Bordeaux-Carreire) : Projets de séquençage à petit, moyen et haut débit. La technique Sanger a été complétée fin 2010 par le séquençage de nouvelle génération qui permet l'acquisition simultanée de millions de séquences. La PF accompagne les utilisateurs dans le choix de la meilleure technologie en fonction des objectifs, dans la préparation des échantillons et le traitement informatique des données.
• TILLING (site de Villenave d'Ornon): Détection de mutations inconnues chez des gènes cibles sur la population de mutants MicroTom mutagénéisés par l'EMS comprenant 3 500 familles de mutants M2 phénotypés.

• Equipements/Personnels

-Automate d'extraction ADN Autogenflex 3000
-Dosage d'acide nucléique par absorbance (Nanodrop) ou fluorescence (Bioanalyzer)
-Robots pipeteurs Hamilton, Biomek 3000, Freedom EVO Tecan et Biomek NX Beckman
-Thermocycleurs, PCR temps réel ABI 7500 et LC 480 ROCHE
-Séquenceurs capillaires ABI 3730 et ABI 3130 XL, 3 séquenceurs LI-COR 4300
-Génotypage haut débit BeadXpress Illumina
-Séquençage de 2nde Génération Genome Analyzer IIx Illumina
- 2 séquenceurs à moyen débit : le PGM de Life Technologies et le MiSeq d'Illumina (acquis en 2012).
- Un séquenceur à haut débit Proton (site de Pierroton), commercialisé très récemment (Life Technologies, acquis en 2013). Il allie facilité d'utilisation, grande rapidité d'exécution et évolutivité. Ce séquenceur haut débit, basé sur la technologie des semi-conducteurs (similaire à celle du Ion - Torrent -PGM), permet de répondre aux demandes concernant l'exome, le transcriptome et bientôt le génome humain. En effet, la puce PI délivre : 10 Gb et 70 millions de « reads » de 200 bases (soit deux exomes humains en simultané). La puce PII, permettant de réaliser plus de 50 Gb, sera disponible d'ici fin 2013.

Personnel : 14

• Expertise - Prestations

Prestations connexes : Extraction d'ADN génomique automatisée (à partir de sang total et d'ADN génomique végétal). Mise à disposition des équipements.
Quantification des acides nucléiques
Dosage génique
Assistance technique aux utilisateurs
Formation des utilisateurs

• Spécificités, originalité

• Perspectives : transcriptome sur cellules isolées. Analyse bioinformatique des données issues du séquençage 2ème génération.
• Développements technologiques : Robotisation pour la réorganisation d'échantillons (tube - plaque, plaque - plaque, normalisation de plaque) pour la préparation et la purification des réactions de séquence, la préparation des librairies de séquençage de nouvelle génération. Optimisation des méthodes de génotypage et de séquençage (diminution des coûts, augmentation des débits, multiplexage).
• Qualité : traçabilité des échantillons et des analyses, enregistrement des échantillons, protocoles expérimentaux et procédures écrites. Gestion des extractions d'ADN par code barre. Contrôle qualité EMQN en 2007, 2008 et 2009 (DNA sequencing). Charte de la plateforme régissant les modalités d'intéraction avec les utilisateurs. Enquêtes de satisfactions. Audit INRA. Certification ISO 9001 depuis 2012. Appartenance au Groupe qualité PF bordelaises. BPL.
• Exemple de projets NGS dans le domaine du cancer :
- Test sur l'ADN tumoral de panels « custom » de gènes (Séquenceur PGM, amplicons) :
-> Dans les syndromes myéloprolifératifs, Eric Lippert (Laboratoire Hématopoïèse Leucémique et Cibles Thérapeutiques Université Bordeaux Segalen)
-> Dans les sarcomes, Isabelle Hostein (Département de Pathologie Unité de Génétique Tumorale Institut Bergonié, Bordeaux)
- Mise en place de la nouvelle stratégie diagnostique en oncogénétique. Capture sélective par SureSelect sur ADN génomique de 22 gènes. Le séquençage a été mis au point sur le GAIIx pour une transposition sur un MiSeq, Nicolas Sevenet, Michel Longy (Laboratoire de Biologie, Institut Bergonié, Bordeaux).

• Modalités d'accès

• Accès : public/privé. Collaboration ou service. Vocation régionale, nationale et internationale. Tarifs en ligne.
• Adresse : Plateforme Génome-Transcriptome de Bordeaux
CGFB - Université Victor Segalen Bordeaux2
146 Rue Léo Saignat - 33076 Bordeaux Cedex

• Certifications, labels, logos des partenaires