

Plateforme GENTYANE Génotypage Séquençage Haut Débit

Charles PONCET



Nathalie BERNARD
Lydia JAFFRELO
Pierre DESRAY



Plate-forme Opérationnelle RIO 2006
Plate-forme Génétique et Amélioration des plantes

Le réseau des Plateformes DGAP

<http://www.inra.fr/intranet/Departements/gap/vie-collective/qualite/plateformes/index.htm>

- **Ressources Génomiques Végétales** (CNRGV - Toulouse) (*Hélène BERGES*)
- **Cytogénétique Moléculaire** (Rennes) (*Olivier CORITON*)
- **Protéomique** (Moulon) (*Michel ZIVY ; Benoit VALOT*)
- **Tilling** (URGV - Evry) (*Abdelhafid BENDAHMANE*)
- **Transcriptome** (URGV – Evry) (*Jean-Pierre RENOU*)
- **Validation Fonctionnelle** (Clermont-Ferrand) (*Pierre BARRET*)
- **Génotypage et Séquençage** (*Dominique BRUNEL ; Charles PONCET*)
 - Etude du Polymorphisme des Génomes Végétaux (UR EPGV - CNG - Evry)
 - GENTYANE : GENoTYpage AuvergNE-UMR1095 GDEC (Clermont-Ferrand)

Une Plate-forme ouverte sur l'extérieur

- Programmes de l'UMR prioritaires à concurrence de 50% de la capacité annuelle (25 projets annuels en moyenne,)
- Le reste de la capacité est ouvert en service pour au niveau national, par ordre de priorité décroissant :
 - Les programmes des autres unités du **DGAP** (15 à 25 projets /an pour INRA de Rennes, Bordeaux, Avignon, Montpellier, Lusignan, Colmar, Corse, Antilles...)
 - Les programmes des autres **EPST** (CNRS , Université d'Orsay, Université d'Auvergne)
 - Les programmes du **secteur privé** (Agri Obtention, Limagrain, Biogemma, Florimond-Desprez, Nestlé, Delbard, Serasem)

Une Plateforme Multiservices

Services de génotypage :

- **Microsatellites** (*en production* depuis 2002)
- Single Nucleotide Polymorphism (3730XL et Illumina Veracode)
- Insertion Site Based Polymorphism
- Séquençage (3730XL, 454 Jean Perrin)

**Capacité
De
Génotypage**

(12/2008)

Palette technique :

- **Analyse de fragments classique** (SSR)
- Snap Shot, SNPlex, Illumina (technologie Veracode)
- TaqMan
- Melting-Curve (ISBP)

**6.5 millions
de points
SSR/an**

Locaux Plate-forme

210 m² de laboratoire Inaugurés en juin 2006

- **Chambre froide**
- **Local Broyage-Extractions (nouveau broyeur)**
- **Salle pré-PCR 1 (ADN) (nouveau robot de pipetage)**
- **Salle pré-PCR 2 (Mix) (nouveau robot de pipetage)**
- **Salle post-PCR (nouveau Séquenceur)**
- **Salle RT-PCR**
- **Salle Développements Technologiques (nouveau matériel Illumina et Nimblegen Roche)**
- **Salle Informatique – Analyse Des Données (5 nouveaux PC d'analyse)**
- **Bureau (nouveau recruté!)**
- **Courant secouru et ondulé pour l'ensemble de la plate-forme**

Cure de jeunesse Plate-Forme :

Sources de financement :

- **Biotechnologie Végétale (via CNOC)**
- **Conseil Régional d'Auvergne**
- **INRA DGAP**
- **FEDER**
- **Financement Unité**

Cure de jouvence Plate-Forme :

Acquisition :

- Deux robots de pipetage Hamilton Robotics
- 19 thermocycleurs ABI Veriti 96 et 384 puits

Cure de jeunesse Plate-Forme :

Acquisition :

- Broyeur Retsch avec adaptateur microplaques
- Séquenceur ABI 3730XL (96 capillaires)
- Illumina BeadExpress (technologie Veracode)
- Plate-forme d'hybridation puce à ADN et Scanner HD
- 5 PC d'analyse performants avec écrans 22 pouces



Cure de jeunesse Plate-Forme :

Nouveaux Services en prestation :

- **Séquençage ADN méthode Sanger sur ABI capillaire**
 - de produits PCR
 - chimie Big Dye V3.1
 - lecture jusqu'à 800 pb
 - capacité 1536 échantillons/ 24 heures
 - coût variable de 2,5€ à 4€ HT

Cure de jeunesse Plate-Forme :

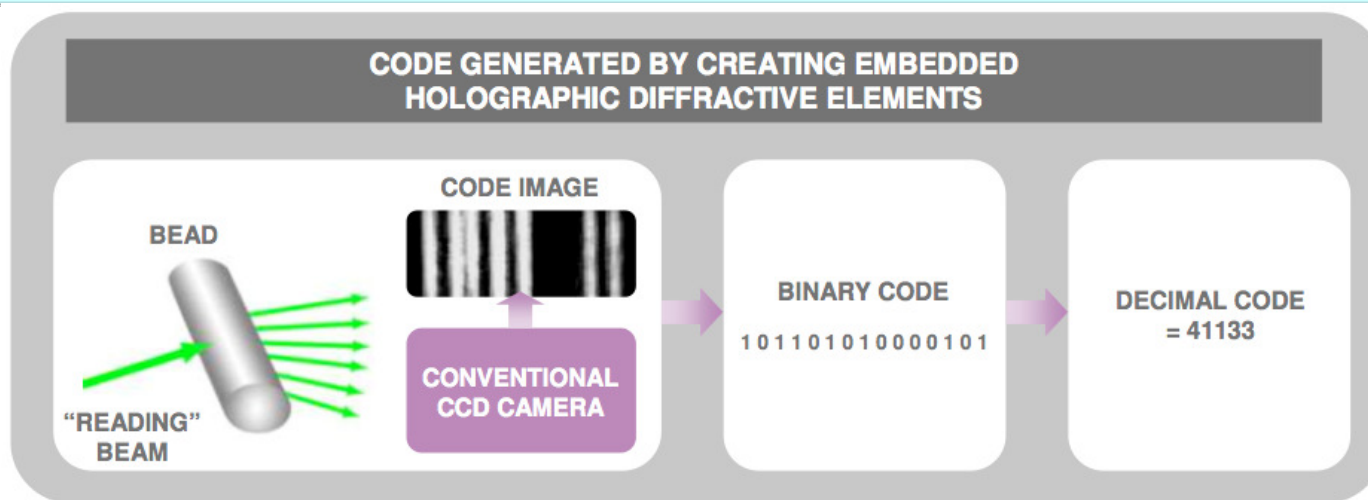
Nouvelles Technologies en prestation Septembre 2009 :

- **Génotypage SNP sur 3730XL ou sur Illumina (haut débit)**
 - **Technologie SNPlex (48SNP par capillaire en 15 mn)**
 - **Capacité de 400000 SNP/24h**
 - **Technologie Illumina Veracode (pyro-séquenceur)**
 - **Capacité de 96 à 384 SNP lus sur 480 génotypes / run**
 - **Coût de 0,05€ à 0,13€ par SNP**

Cure de jeunesse Plate-Forme :

Principe simplifié de la technologie Illumina:

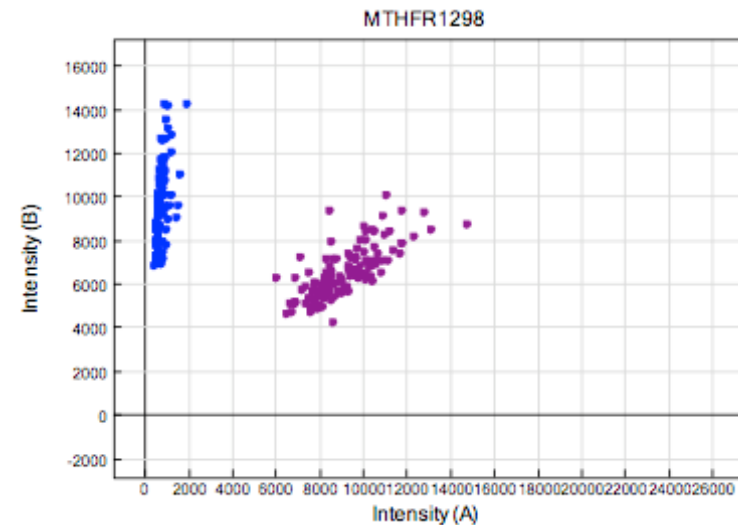
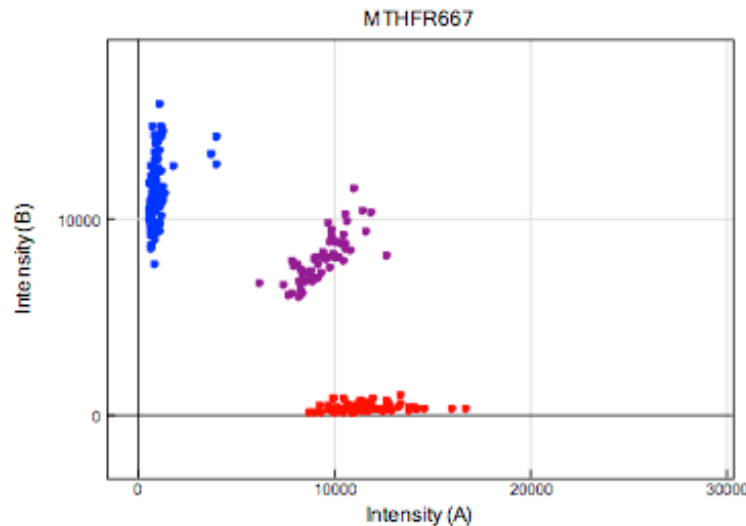
- Utilisation de cylindres de fibre optique gravé d'un hologramme à code binaire
- Chaque cylindre (jusqu'à 384) possède un code d'identification unique



Cure de jouvence Plate-Forme :

Principe simplifié de la technologie Illumina:

- Un type de cylindre permet l'interrogation d'un marqueur (homozygote AA, hétérozygote AB ou homozygote BB) par l'intermédiaire du protocole Goldengate à 2 couleurs.

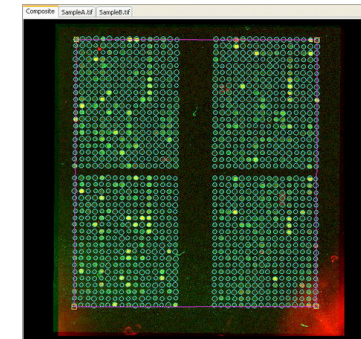


Cure de jouvence Plate-Forme :

Nouvelles Technologies en prestation Juin 2009

:

- **Génotypage par puce à « façon »**
 - Type Nimblegen avec Scanner HD
 - Capacité de 2 millions de marqueurs par puce
 - Prestation en cours de validation



Démarche Qualité :

Suite à la labellisation CNOC Plate forme stratégique INRA, démarche de certification ISO 9001 pour 2010.

Audit de certification ISO 9001 en avril 2009, résultats encourageants

Etude d'implémentation du LIMS de la plateforme Genotoul

Modalités d'Accès :

**Soit réponse à l'appel à intention génotypage GAP
Prise de contact direct (Internet, Mail, Téléphone)**

**Définitions des modalités (échéance, coût, analyse,
intervenants, logistique d'envoi du matériel)**

- ✓ **Convention de prestation de service avec :**
 - **Accueil possible de personnel extérieure**
 - **Prise en charge totale du projet**

Retours clients :

Grace au renouvellement de nos outils et au recrutement de personnel sur la plate forme :

- **Rapidité d'obtention des résultats**
- **Qualité nettement améliorée**
- **Réactivité face aux projets urgents améliorée**
- **Réponse dans les 48h aux demandes de devis**
- **Plus de limitation matériel.**