



Project S. 1: Applications Réelles du Séquençage à Haut Débit (NGS)

Ahmed Sayadi

asayadi@univ-catholyon.fr



GitHub

A vast platform reshaping how developers collaborate on projects by offering essential tools for version control, issue tracking, and code review.

```
Command Prompt
Microsoft Windows [Version 10.0.18363.1082]
(c) 2019 Microsoft Corporation. All rights reserved.

C:\Users\ALKA DAS>
```

Projet: Partie 1





Compte rendu 1:

Trouver des exemples de recherches visant à identifier des cibles thérapeutiques à partir de données publiques sur une maladie, qui ont utilisé la technologie du séquençage de nouvelle génération (NGS) ?

Rédiger deux à trois pages récapitulant les trois parties de chaque exemple/papier, en expliquant l'objectif de l'étude, les méthodes, les résultats et la conclusion.

Exemples

Voici des exemples concrets où le séquençage de nouvelle génération (NGS) a été utilisé avec succès dans le domaine des maladies :

Exemples



Génomique du cancer :

- **Leucémie myéloïde aiguë (LMA)** : Le NGS a été utilisé pour identifier des mutations dans des gènes comme FLT3, NPM1 et IDH1/2, ce qui peut guider les décisions de traitement. Par exemple, des thérapies ciblées sont développées en fonction de ces mutations, menant à des plans de traitement personnalisés.
- **Cancer du sein** : Le NGS est utilisé pour évaluer le paysage génétique des tumeurs mammaires, identifiant des mutations exploitables (par exemple, dans les gènes BRCA1/2) qui influencent les choix de traitement et l'éligibilité aux inhibiteurs de PARP.

Exemples



Maladies infectieuses :

- **COVID-19** : Le NGS a joué un rôle crucial dans le séquençage du virus SARS-CoV-2, permettant l'identification rapide des variants et informant les réponses de santé publique. Cela a aidé à suivre les mutations du virus et leur impact sur la transmissibilité et l'efficacité des vaccins.
- **Tuberculose (TB)** : Le NGS est utilisé pour détecter des souches résistantes aux médicaments de *Mycobacterium tuberculosis*, permettant un traitement approprié et rapide. Par exemple, le séquençage du génome entier a été utilisé lors d'épidémies pour identifier des schémas de transmission et des mutations de résistance.

Exemples



Pharmacogénomique :

- **Réactions indésirables aux médicaments** : Le NGS est utilisé pour évaluer les variations génétiques qui influencent le métabolisme des médicaments (par exemple, les variantes du gène CYP450) afin d'adapter les médicaments pour les individus, minimisant les effets indésirables et optimisant l'efficacité thérapeutique.

Projet: Partie 2





Wiki et code GitHub :

- Le plan de projet.
- Codes et scripts utilisés.
- Les interprétations des résultats.

Présentation de 15 minutes de discussion.

- Introduction
- Les méthodes utilisées.
- Les interprétations biologiques et conclusions des résultats.

Analyse d'article scientifique



1. Lire l'Article :

- **But** : Familiarisez-vous avec la conception générale de l'étude, les méthodes, les résultats et les conclusions.
- **Conseils** : Prenez des notes en lisant, en surlignant les points clés et les termes inconnus.

2. Donner la Problématique :

- **But** : Identifiez la principale question de recherche ou le problème que l'étude vise à traiter.
- **Conseils** : Formulez l'importance du problème dans le contexte du domaine et pourquoi il est essentiel de l'étudier.



3. Solution :

- **But** : Décrivez comment les chercheurs ont tenté de résoudre le problème identifié ou de répondre à la question de recherche.
- **Conseils** : Discutez des hypothèses et des objectifs de l'étude, y compris ce que les chercheurs espéraient réaliser avec leur travail.

4. Outil Utilisé :

- **But** : Mettez en évidence la plateforme NGS, les logiciels ou les outils analytiques utilisés dans l'étude.
- **Conseils** : Comprenez pourquoi certains outils ont été choisis et comment ils contribuent aux objectifs de l'étude.



5. Interprétation des Données :

- **But** : Analysez comment les données ont été interprétées dans le contexte de la question de recherche et les implications des résultats.
- **Conseils** : Encouragez une réflexion critique sur les résultats, y compris si les interprétations sont soutenues par les données et les limites potentielles.

6. Conclusion :

- **But** : Résumez les principales conclusions de l'étude et leur signification dans le contexte scientifique plus large.
- **Conseils** : Discutez des directions futures pour la recherche et comment les résultats pourraient influencer la pratique clinique ou d'autres études.



7. Considérations Supplémentaires

- **Pensée Critique** : Critiquer les méthodologies et les résultats, en considérant des explications alternatives ou des expériences supplémentaires qui pourraient renforcer les conclusions.
- **Discussions de Groupe** : Organisez des discussions de groupe pour partager les interprétations et les perspectives sur l'article.
- **Application** : Réfléchir à la façon dont les résultats pourraient s'appliquer à d'autres situations réelles ou à des questions de recherche futures dans le domaine.




RESEARCH ARTICLE

Open Access



RNA-seq and Tn-seq reveal fitness determinants of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* during growth in human serum

Xinglin Zhang^{1,2}, Vincent de Maat², Ana M. Guzmán Prieto², Tomasz K. Prajsnar³, Jumamurat R. Bayjanov², Mark de Been², Malbert R. C. Rogers², Marc J. M. Bonten², Stéphane Mesnage³, Rob J. L. Willems² and Willem van Schaik^{2,4*} 

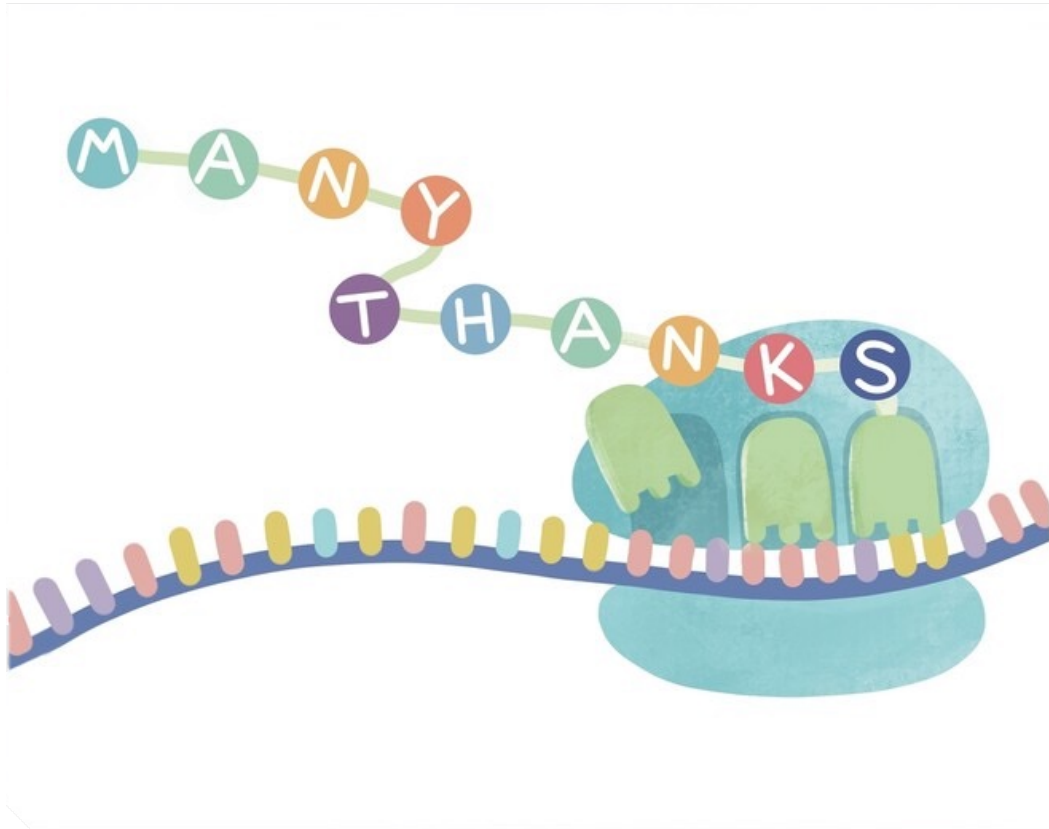
Abstract

Background: The Gram-positive bacterium *Enterococcus faecium* is a commensal of the human gastrointestinal tract and a frequent cause of bloodstream infections in hospitalized patients. The mechanisms by which *E. faecium* can survive and grow in blood during an infection have not yet been characterized. Here, we identify genes that contribute to growth of *E. faecium* in human serum through transcriptome profiling (RNA-seq) and a high-throughput transposon mutant library sequencing approach (Tn-seq).

Results: We first sequenced the genome of *E. faecium* E745, a vancomycin-resistant clinical isolate, using a combination of short- and long read sequencing, revealing a 2,765,010 nt chromosome and 6 plasmids, with sizes ranging between 9.3 kbp and 223.7 kbp. We then compared the transcriptome of *E. faecium* E745 during exponential growth in rich medium and in human serum by RNA-seq. This analysis revealed that 27.8% of genes on the *E. faecium* E745 genome were differentially expressed in these two conditions. A gene cluster with a role in purine biosynthesis was among the most upregulated genes in *E. faecium* E745 upon growth in serum. The *E. faecium* E745 transposon mutant library was then used to identify genes that were specifically required for growth of *E. faecium* in serum. Genes involved in de novo nucleotide biosynthesis (including *pyrK_2*, *pyrF*, *purD*, *purH*) and a gene encoding a phosphotransferase system subunit (*manY_2*) were thus identified to be contributing to *E. faecium* growth in human serum. Transposon mutants in *pyrK_2*, *pyrF*, *purD*, *purH* and *manY_2* were isolated from the library and their impaired growth in human serum was confirmed. In addition, the *pyrK_2* and *manY_2* mutants were tested for their virulence in an intravenous zebrafish infection model and exhibited significantly attenuated virulence compared to *E. faecium* E745.

Conclusions: Genes involved in carbohydrate metabolism and nucleotide biosynthesis of *E. faecium* are essential for growth in human serum and contribute to the pathogenesis of this organism. These genes may serve as targets for the development of novel anti-infectives for the treatment of *E. faecium* bloodstream infections.

Keywords: *Enterococcus faecium*, Transcriptome, Transposon mutant library screening, Nucleotide biosynthesis, Carbohydrate metabolism, Virulence, Zebrafish



© TrailMixArt