

# FORMATION BIO-INFORMATIQUE ET ANALYSE DE DONNÉES DE SÉQUENÇAGE HAUT DÉBIT

14-18 Novembre 2016

Ouagadougou BURKINA FASO

# INTRODUCTION À LA GENOMIQUE ET À LA BIO-INFORMATIQUE

Dominique Brunel ([dominique.brunel@inra.fr](mailto:dominique.brunel@inra.fr))

INRA\_EPGV (Etude du Polymorphisme des Génomes Végétaux)

CEA\_Institut de Génomique/Centre National de Génotypage, Evry, France



# PLAN

*I. Des Rappels Historiques*

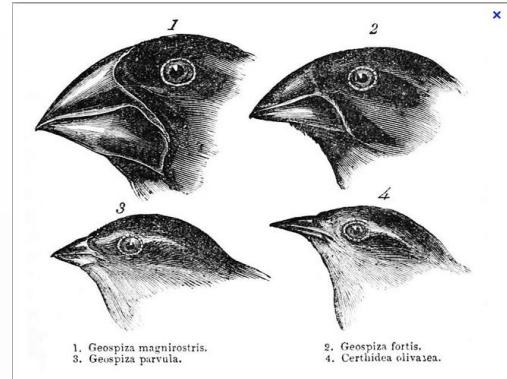
*II. Des Techniques*

*III. Des Applications*

## *I. DES RAPPELS HISTORIQUES*

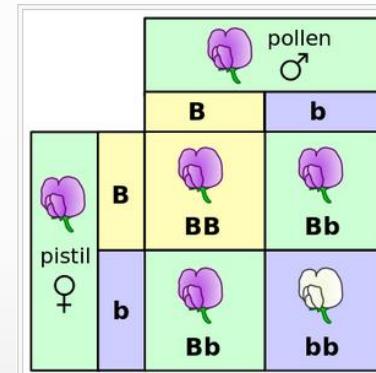
### *1. la Génétique.*

1859: Publication de « De l'origine des espèces » (Ch. Darwin).



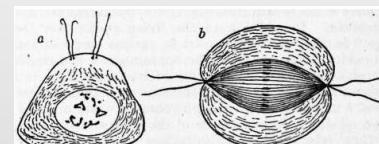
[https://fr.wikipedia.org/wiki/Pinsons\\_de\\_Darwin](https://fr.wikipedia.org/wiki/Pinsons_de_Darwin)

1865: Découverte des lois de l'hérédité (G. Mendel).



[https://fr.wikipedia.org/wiki/Mendelian\\_inheritance](https://fr.wikipedia.org/wiki/Mendelian_inheritance)

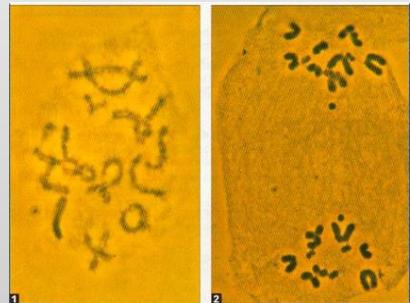
1880: Mise en évidence de la localisation de l'hérédité et le noyau dans la cellule (O. Hertwig et E. Strasburger).



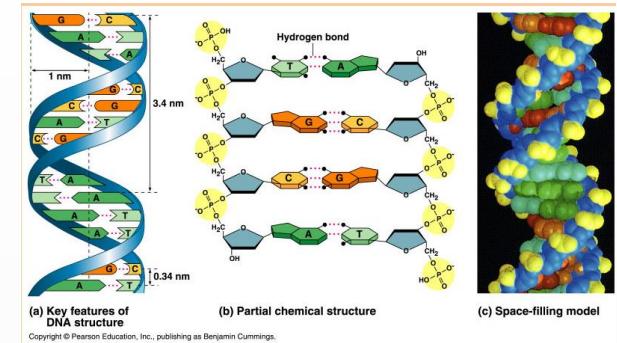
[Eb11.co.uk/index.php?p=CYTOLOGY38709](http://eb11.co.uk/index.php?p=CYTOLOGY38709)

1911: Les chromosomes sont les supports de l'hérédité (W.Sutton et T.Boveri).

[Slideplayer.fr/slide/1790373](http://slideplayer.fr/slide/1790373)



- 1953: Découverte de la structure en double hélice de l'ADN (J.Watson, F. Crick et R. Franklin).



- 1958: premier lien entre un handicap mental et une anomalie chromosomique, la trisomie 21. (R. Turpin, J. Lejeune et M. Gauthier).

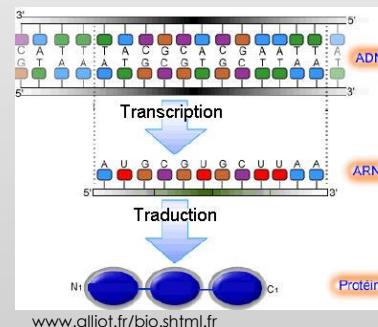


[www.24matins.fr/trisomie-21-le-depistage-a-laide-d'une-prise-de-sang-22903](http://www.24matins.fr/trisomie-21-le-depistage-a-laide-d'une-prise-de-sang-22903)



[Publications.fondationslejeune.org/article.asp?filename=fj106.xml](http://Publications.fondationslejeune.org/article.asp?filename=fj106.xml)

- 1961: découverte du code génétique, relation codon de trois bases et un acide aminé. (J. Monod, F. Jacob et A. Lwoff).



[www.alliot.fr/bio.shtml.fr](http://www.alliot.fr/bio.shtml.fr)

	T	C	A	G
T	TTC [Phe] TTO [Leu]	TCT [Ser] TCC [Ser]	TAT [Tyr] TAC [Tyr]	TGT [Cys] TGC [Cys]
C	GTT [Leu] GTC [Leu]	GCT [Pro] GCC [Pro]	GAT [His] GAC [Gln]	GCT [Arg] GCG [Arg]
A	ATT [Ile] ATA [Ile] ATG [Met]	ACT [Thr] ACA [Thr]	AAA [Lys] AAG [Lys]	ATG [Arg]
G	GTT [Val] GTC [Val]	GCT [Ala] GCC [Ala]	GAT [Asp] GAC [Asp]	GCT [Gly] GCG [Gly]



*La question centrale de la Génétique:*

*La relation Phénotype/Génotype*

**Le phénotype** est l'ensemble des caractères observables d'un individu.

Le **génotype** est l'ensemble de l'information génétique d'un individu qui se transmet des parents à leurs descendants

L'expression du génotype produit dans un **environnement donné** un phénotype.

**Phénotype= interaction {Génotype x Environnement}.**

# PREMIÈRE ETAPE DE 1970 À 2000: LES MARQUEURS GÉNÉTIQUES

- Les **marqueurs phénotypiques** sont couleur des coquille, des pétales, des yeux,...
- Les **marqueurs moléculaires** sont des fragments d'ADN ou sa représentation moléculaire ( ARN ou protéine) qui permettent d'approcher ou mieux de connaître l'information génétique.
  - Un marqueur est partagé par tous les individus d'une espèce, d'un règne, voire des êtres vivants.
  - Il est transmis à chaque génération **sans action de l'environnement**.
  - Leur nombre est très important par rapport aux marqueurs phénotypiques.
  - Ils ont une forte variabilité.
  - Ils sont de caractère discret ( pas de chevauchement comme les traits phénotypiques)

## *DEUXIÈME ETAPE, À PARTIR DE 2000: LA GÉNOMIQUE*

- 1977 premier séquençage d'un génome complet de virus à ARN.
- 1986: Lancement du programme de séquençage du génome humain
- 1995: Mise à disposition de la cartographie du génome humain
- 2000 Séquençage du génome humain
- 2000 Séquençage génome végétal: *Arabidopsis thaliana*

- Le **Génome** est l'ensemble du matériel génétique d'un individu ou d'une espèce codée dans son acide désoxyribonucléique (ADN), à l'exception des virus à ARN.
- La **Génomique** étudie la structure nucléique et le fonctionnement d'un organisme, d'un organe, d'un tissu à l'échelle du génome au lieu de la limiter à l'échelle d'un seul gène.
- Deux volets complémentaires:
  - la **génomique structurale**, qui décrit l'organisation du génome, réalise son séquençage et dresse l'inventaire des gènes,
  - la **génomique fonctionnelle**, qui étudie la fonction des gènes, leur mode de régulation et leurs interactions.

- la **génomique structurale**, qui décrit l'organisation du génome, réalise son séquençage et dresse l'inventaire des gènes,

	<b>Levure</b>	<b>Nématode</b>	<b>Drosophile</b>	<b>Arabette</b>	<b>Homme</b>
taille physique (Mb)	13	100	180	125	3.000
taille moyenne d'un cM (kb)	3	500	300	220	800
teneur en [G+C]	38%	36%	nd	41%	41%
nombre de gènes	6.200	19.100	13.600	25.500	~30.000
fraction codante	68%	27%	13%	29%	1,40%
nombre moyen d'exons par gène	1,04	5,5	4,6	5,2	8,7
taille des gènes (kb)	1,4	2,7	3	2,1	28
taille moyenne du codant (introns exclus)	1.450	1.311	1.497	1.300	1.340
taille moyenne des exons (pb)	1.450	218	150	250	145
taille moyenne des introns (pb)	500	267	487	168	~3.300

# NOMBREUSES BASES DE DONNÉES ACCESSIBLES SUR LE WEB:

- **National Center for Biotechnology Information (NCBI)**

- **BLAST Home**

- Le logiciel BLAST recherche des régions qui présentent des similarités entre des séquences biologiques.

- **BLAST “Assembled Genomes”**

- Human

- Mouse

- Rat

- Arabidopsis thaliana

- Oryza sativa

- Bos taurus

- Danio rerio

- Drosophila melanogaster

- Gallus gallus

- Apis mellifera

- Microbes, etc....

- la **génomique fonctionnelle**, qui étudie la fonction des gènes, leur mode de régulation et leurs interactions.
  - La transcriptome

# DEUX NOUVELLES NOTIONS:

## 1. LA METAGÉNOMIQUE

- Le **Métagénome** est l'ensemble des gènes contenus dans un environnement donné, toutes espèces mélangées.
- Exemple: Le métagénome constitué du génome humain et du microbiome intestinal est nécessaire au bon déroulement de la digestion.
- Exemple: Rhizobiome, Phytobiome,....

## 2. L'ÉPIGENETIQUE ET L'ÉPIGÉNOMIQUE

- L'**Epigénétique** (du grec ancien ἐπί, épí, « au-dessus de », et de génétique) étudie les mécanismes moléculaires qui modulent l'expression du patrimoine génétique en fonction du contexte.
  - Méthylation de l'ADN
  - Ouverture/Fermeture de la chromatine
  - Etc...
- L'**Epigénomique** est l'étude de l'ensemble des modifications épigénétiques d'une cellule.
- *Phénotype ou Génotype????*

- le développement actuel de la génomique est lié:
  - aux progrès des techniques de la biologie moléculaire, en particulier aux progrès en électronique, et en robotique.
  - aux avancées intervenues en informatique ( capacité de calculs, stockage, base de données, internet) et en bio-informatique ( algorithmes).

## *II. Des techniques*

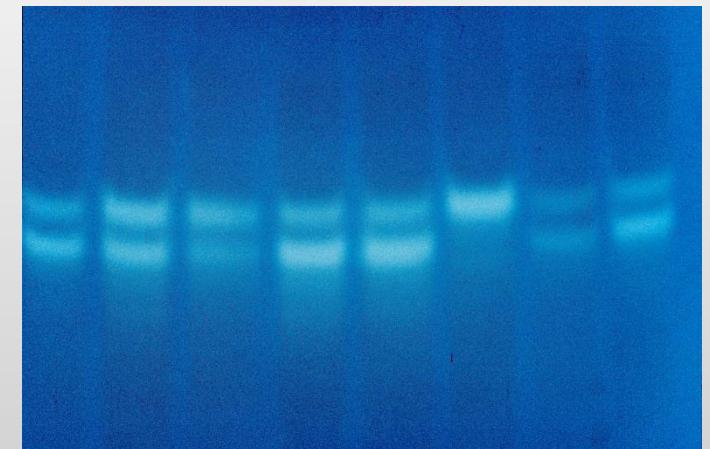
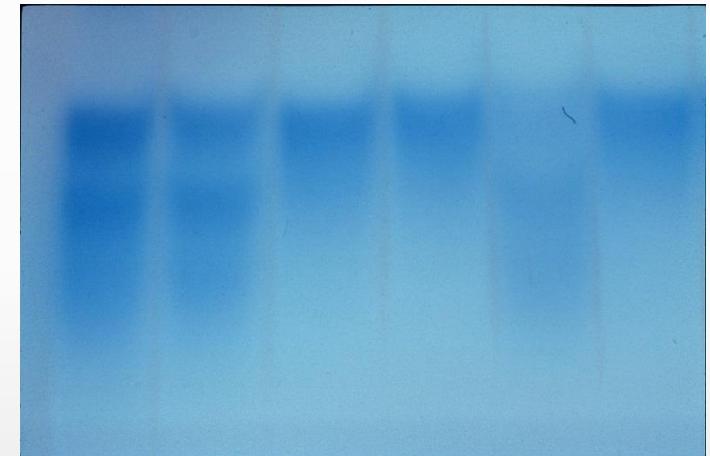
# *LES OUTILS TECHNOLOGIQUES\_ 1960 À 1980*

- Isoler les protéines ( sang, protéines de réserves, enzymes)

- **Migration sur gel d'électrophorèse**

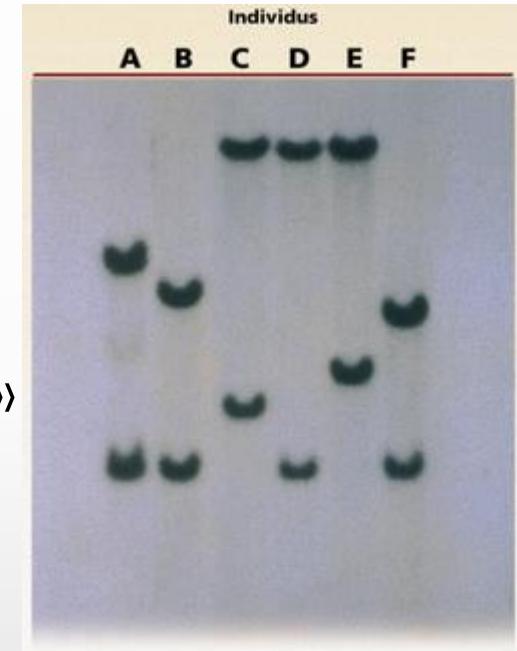
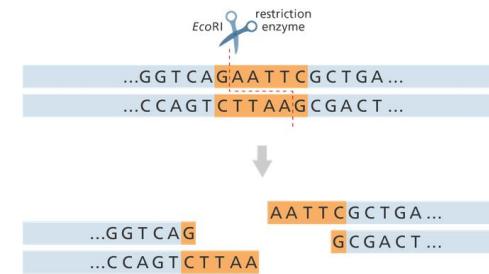
- Analyse visuelle

Identification du polymorphisme de migration



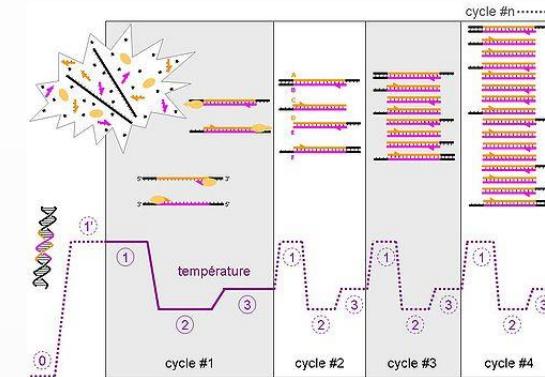
# LES OUTILS TECHNOLOGIQUES\_ 1980 À 1990

- Isoler l'ADN et/ou de l'ARN
- Découper l'ADN de façon reproductible « **les enzymes de restriction** »
- **Migration sur gel d'électrophorèse**
- Analyse visuelle
  - Identification du polymorphisme « RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism» (Southern blot)
  - Analyser la régulation d'un gène ( Northern blot)

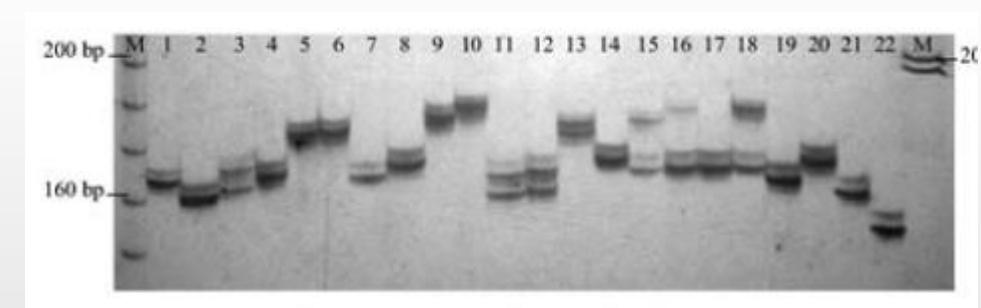


# LES OUTILS TECHNOLOGIQUES\_ 1990 À 2000

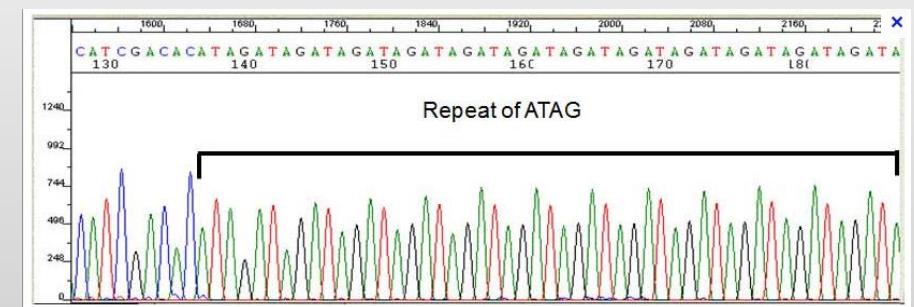
- Isoler de l'ADN et de l'ARN
  - Copier l'ADN par la **PCR**, Polymerase Chain Reaction »
  - Transcrire l'ARN par la **RT-PCR**, Reverse Transcription-Polymerase Chain reaction »
  - Migration du gel d'électrophorèse
  - Lire l'ADN: le « **Séquençage en Sanger**» et/ou détection de microsatellites
  - Analyse visuelle
    - Diagnostiquer les variations: le génotypage
    - Analyser les régulations: le transcriptome



[fr.wikipedia.org/wiki/Reaction-en-chaine-par-polymerase](http://fr.wikipedia.org/wiki/Reaction-en-chaine-par-polymerase)



A.A.Hoshino et al 2006\_Genet.Mol.Biol. Vol 49



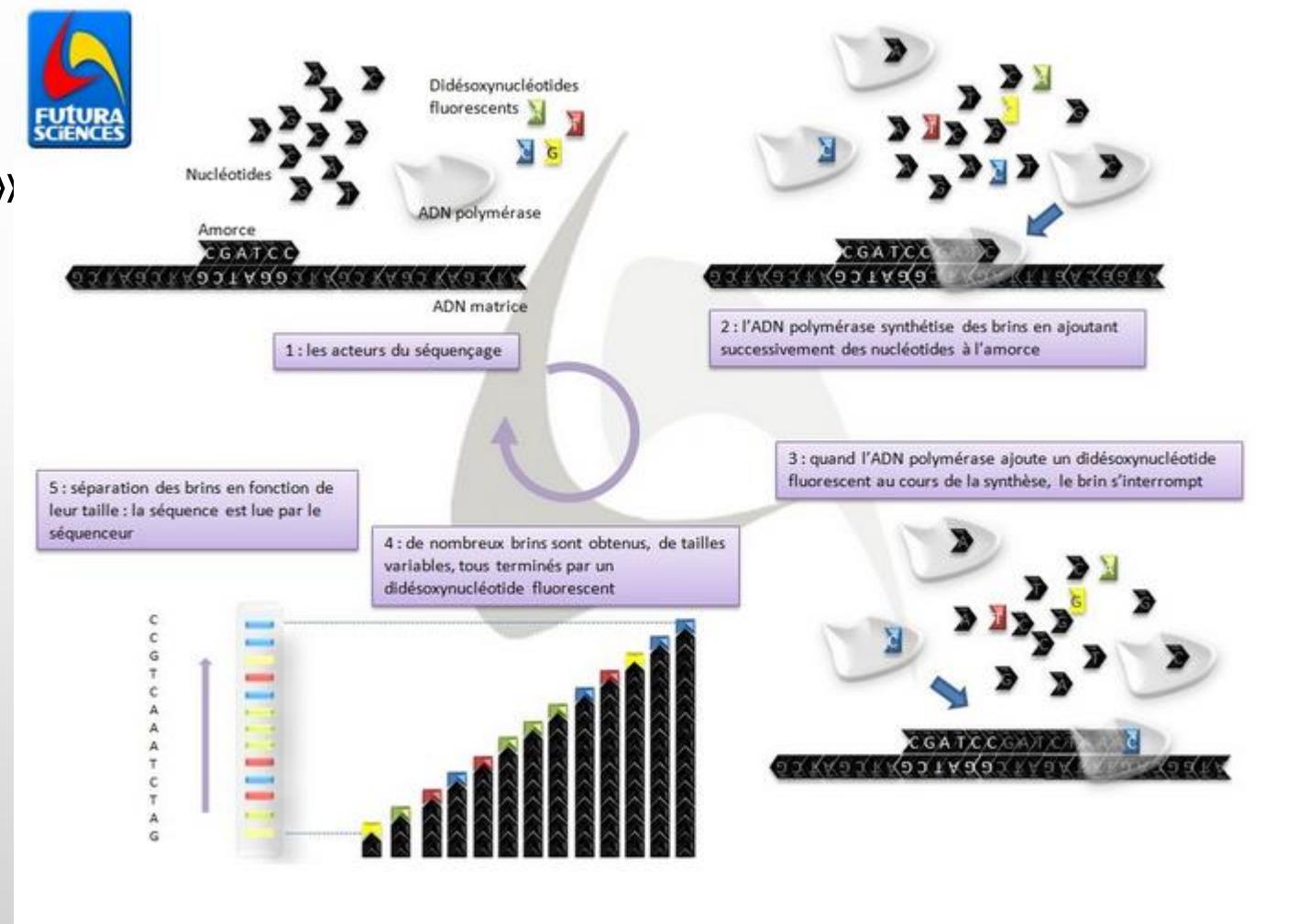
# *LES OUTILS TECHNOLOGIQUES\_ 2005 À 2016*

- Isoler l'ADN et de l'ARN
- Nouveaux outils:
- **Séquençage (NGS\_ Next-Generation Sequencing ou HTS )**
- **Puces de Génotypage à haut débit**
- Utilisation de robots de pipetage et d'analyses des résultats ( scanner)
- Analyse de dizaines voire de milliers de gènes ( variations nucléotidiques ou expression génique) sur le même individu.

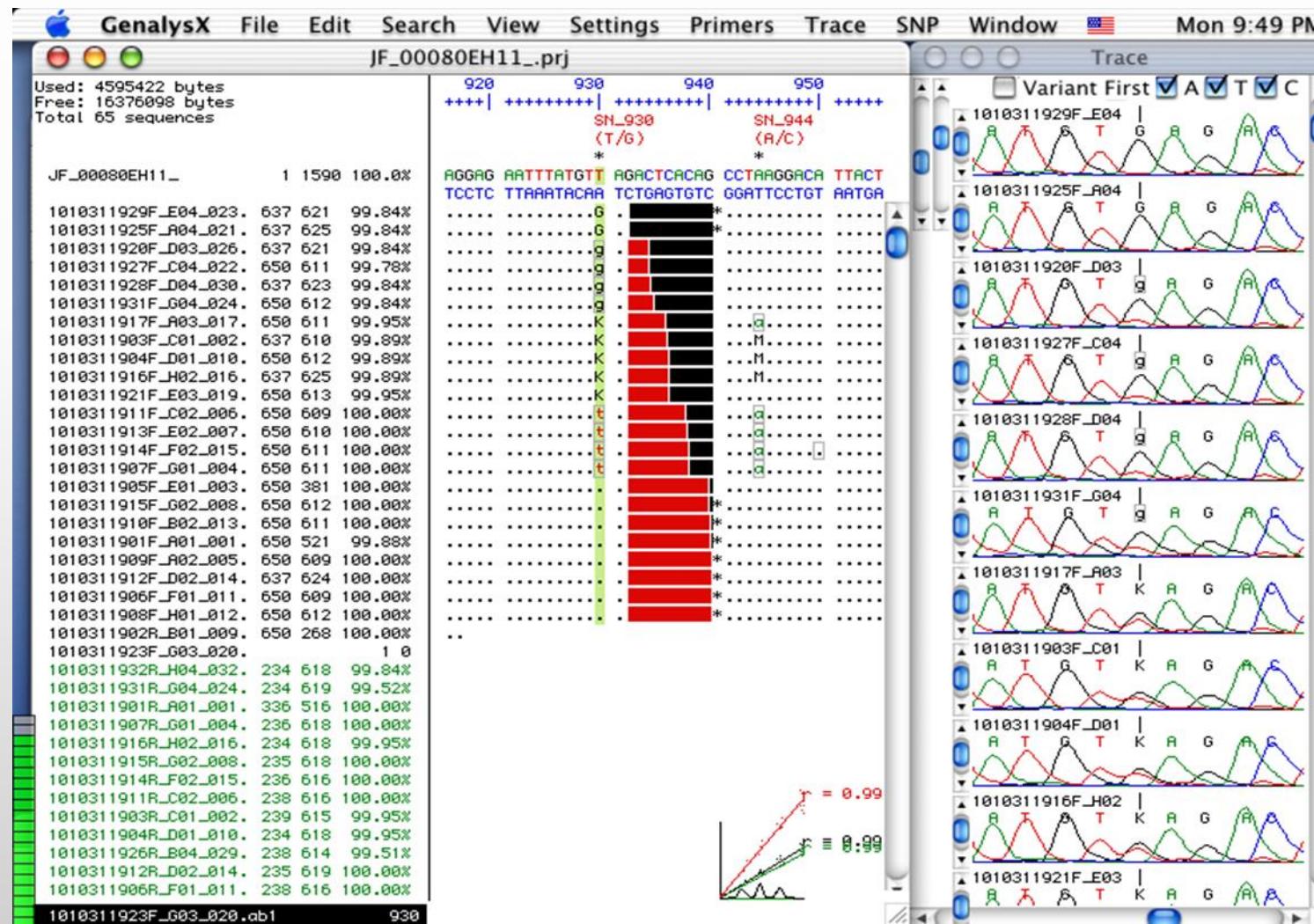
**Besoins en informatique et développement d'outils spécifiques de bio-informatique**

# 1. LE SÉQUENÇAGE: OUTIL DE DÉCOUVERTE

- Le séquençage « en Sanger »



# ANALYSE DES SÉQUENCES « SANGER »



# SNP : SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM

Individual      Sequence

A                  ATTTAAAGCGCTTCCCGG.....GGCCAGATTGCGC  
                  TAAATTGCGAAGGGCC.....CCGGTCTAAACGCG

B                  ATTTAAAACGCTTCCCGG.....GGCC GATTGCGC  
                  TAAATTGCGAAGGGCC.....CCGG CTAAACGCG

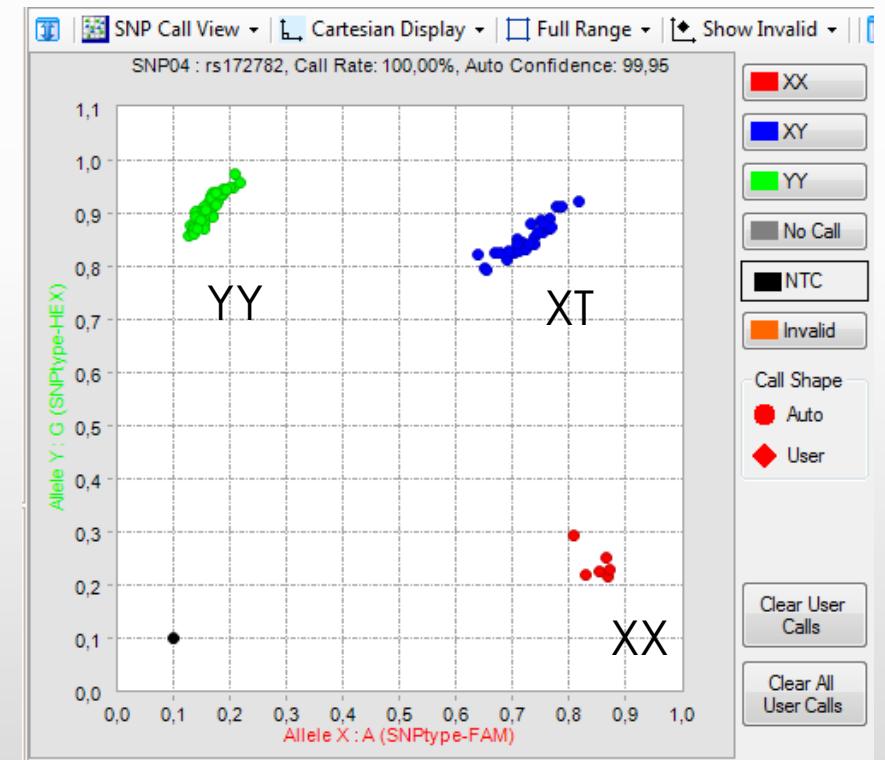
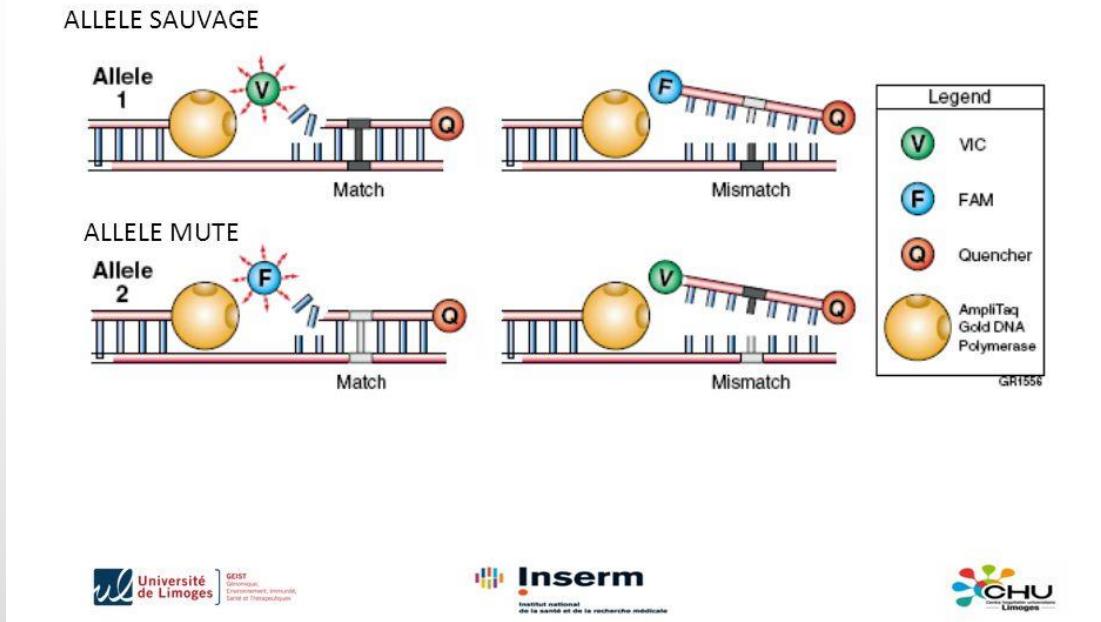
↑  
1 SNP

↑  
1 Indel (insertion/deletion)

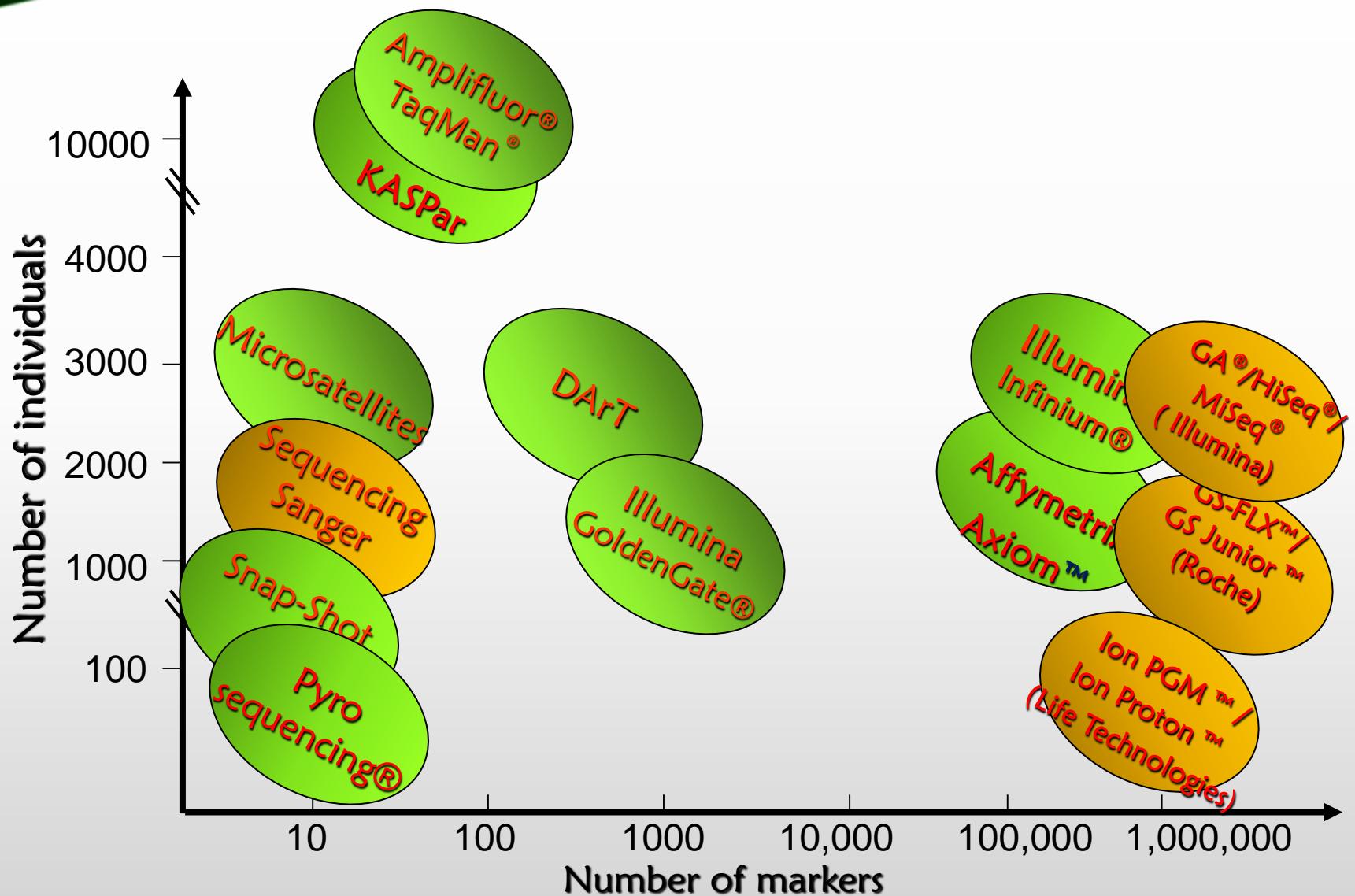
98% marqueur bi-allélique  
Abondant

# 2. LE GÉNOTYPAGE: OUTIL DE DIAGNOSTIC

## Principe de la PCR TaqMan



# TECHNIQUES DE SEQUENÇAGE ET DE GÉNOTYPAGE À HAUT DÉBIT DE 2010 À 2016



# GENOTYPING

Hybridization based assay

Document\_INRA EPGV

SNPs # : low  
Samples # : low to high

SNPs # : high  
Samples # : high

liquid

array

Amplifluor®

Chemicon

TaqMan®

Life Tech.

KASPar®

LGG

iPlex®

Sequenom

Golden Gate®  
Infinium®

Illumina

Axiom®

Affymetrix

# GENOTYPING

Hybridization based assay

Document INRA EPGV

SNPs # : low  
Samples # : low to high

liquid array

Amplifluor®

Chemicon

TaqMan®

Life Tech.

KASPar®

LGG

iPlex®

Sequenom

Hairpin UniPrimer™ fluorescein	5' exonuclease activity of PCR-DNApol	improved Amplifluor®	Mass spectrometry	allelic discrimination method
non	1 ou 2	non	~ 32	multiplexing capacity
⌚ max 0,5 €	⌚ ↗ 0,38 to 1,3 €	⌚ 0,08 to 0,16 €	⌚ max 0,24 max 7,2 €	data point cost (€) sample cost for X SNPs
96 to N 10 <sup>3</sup>	96 to N 10 <sup>3</sup>	48-96 to N 10 <sup>3</sup>	96 to N 10 <sup>3</sup>	samples throughput

# GENOTYPING

Hybridization based assay

Document\_INRA EPGV



Golden Gate®

Infinium®

Axiom®

Illumina

Affymetrix

allelic discrimination method	Ligation Tag labeled	Labeled nucleotides	Labeled probes
Samples format Samples 1 <sup>st</sup> order	<b>32</b> 480	<b>HD 24 /12 /4</b> > 1000	<b>96/384</b> 480
multiplexing capacity	<b>96 - 3072</b>	<b>3 072 - 90 000</b> 90 000 - 250 000 250 000 - 1M	<b>1 500 - 675 000</b>
flexibility	:(	:( )	:( )
sample cost (€) data point cost (cts €)	<b>:( 55 (960 sples-1536 SNPs)</b> <b>3,5</b>	:( )	:( )
coût initial (K€)	:( )	:( )( )	:( )

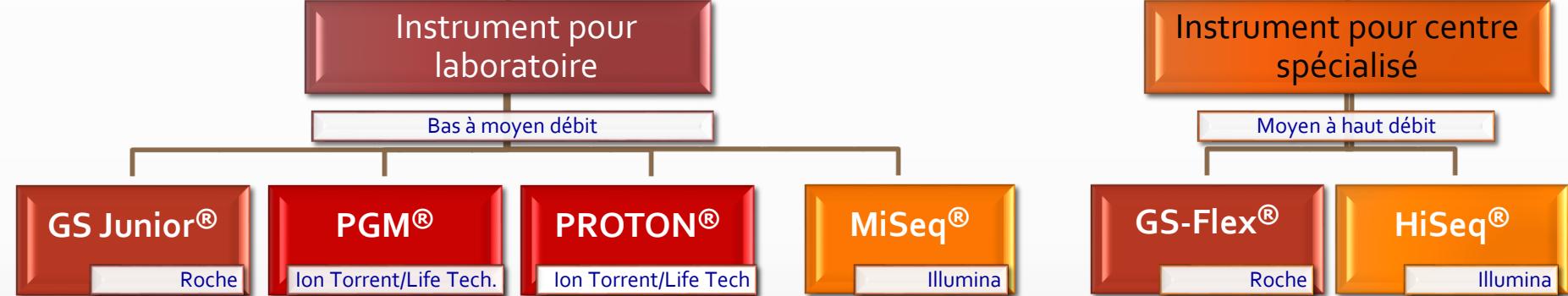
## *QUELQUES MESSAGES*

- Génotypage par hybridation -> excellente spécificité
- Contraintes
  - Qualité de l'ADN
  - Nécessité de validation par analyse visuelle des premiers résultats malgré les logiciels inclus dans les appareils
  - Difficulté de mise en place pour régions très variables ( absence de SNP au moins sur 10 bases autour du SNP choisi)
- Contraintes des délais de commandes
- Coûts importants pour la construction de la puce ( prix diminue avec le nombre d'échantillons à analyser)

# SEQUENCING

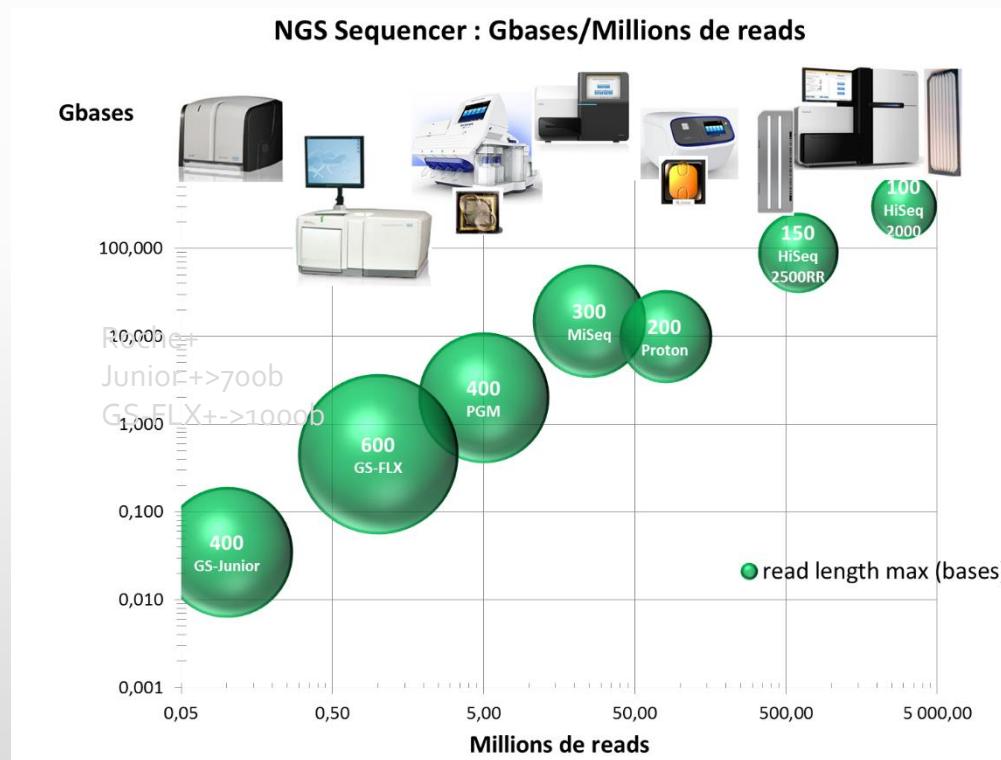
NGS

Document\_INRA EPGV



Single read 400 bases	Single read 100 à 400 bases	Single read 100 à 200 bases	Paired-end 25 à 300 bases	<b>read length</b>	Single read 400 à 1000 bases	Paired-end 25 à 150 bases
--------------------------	--------------------------------	--------------------------------	------------------------------	--------------------	---------------------------------	------------------------------

# LES NOUVEAUX OUTILS DE SÉQUENÇAGE

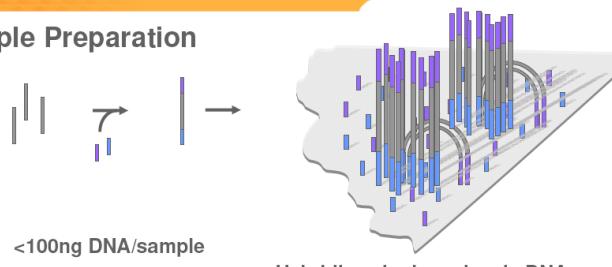


EN 2016

- NextSeq 500 Sequencing System par **ILLUMINA**
- PACBIO RSII par **Pacific Biosciences**
- Minilon™ et PromethION par **Oxford Nanopore Technology**

# TECHNOLOGIE ILLUMINA

## Sample Preparation



<100ng DNA/sample

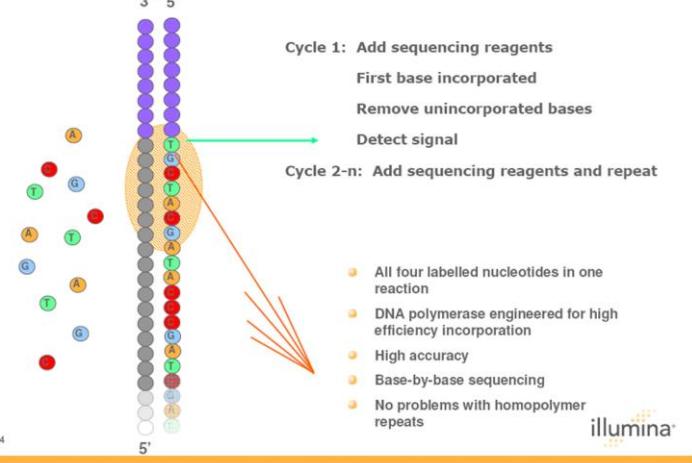
Randomly fragment DNA  
Polish ends  
Ligate adapters

<1 day  
No cloning

Hybridise single molecule DNA  
templates to oligos on flowcell surface  
Amplify to grow 'clusters'  
~1000 molecules per ~ 1 um cluster  
~20,000 clusters per tile  
~32 million clusters per experiment

illumina®

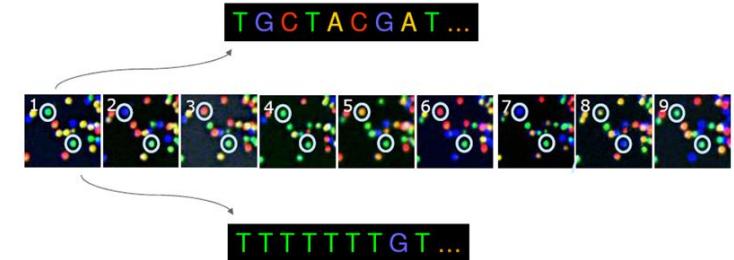
## Sequencing By Synthesis (SBS)



- Cycle 1: Add sequencing reagents
  - First base incorporated
  - Remove unincorporated bases
  - Detect signal
- Cycle 2-n: Add sequencing reagents and repeat

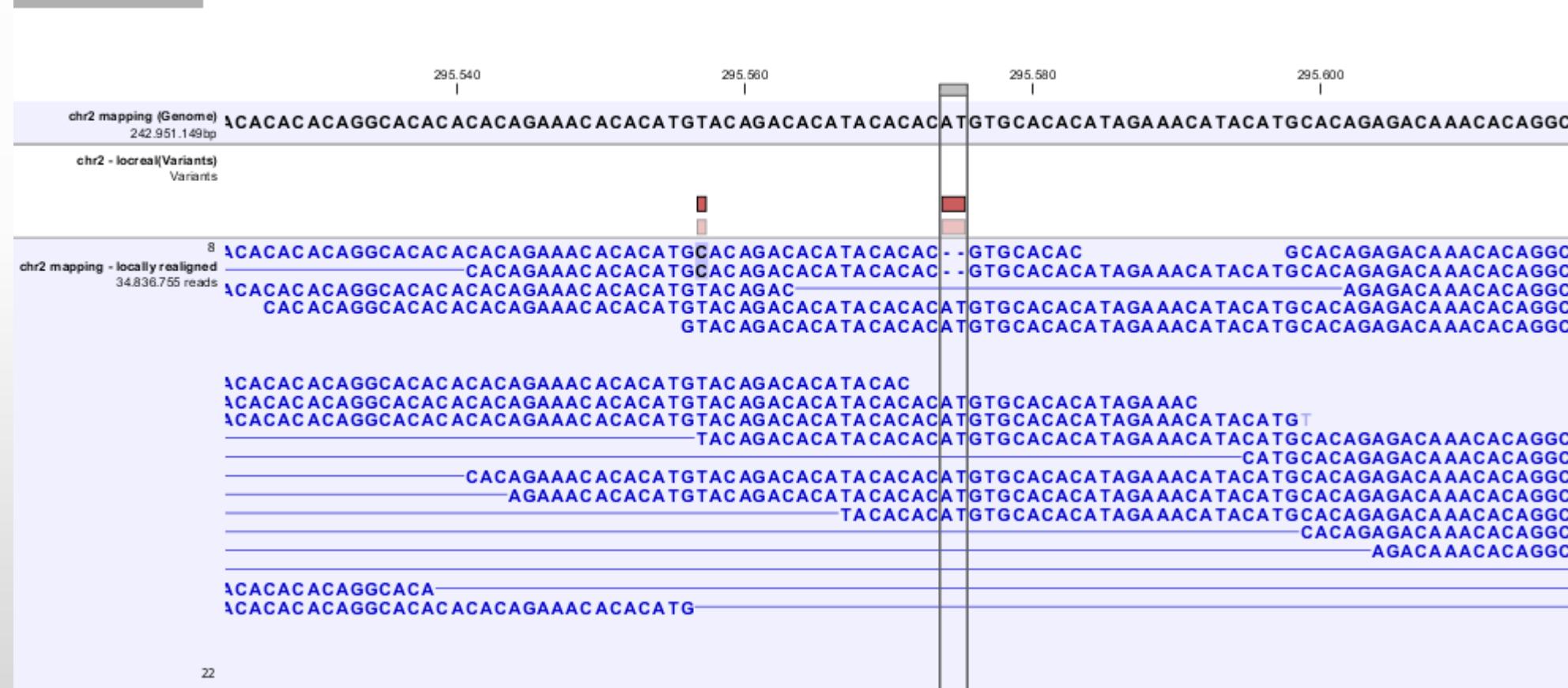
- All four labelled nucleotides in one reaction
- DNA polymerase engineered for high efficiency incorporation
- High accuracy
- Base-by-base sequencing
- No problems with homopolymer repeats

## Base Calling From Raw Data



The identity of each base of a cluster is read off from sequential images

## Variant tracks





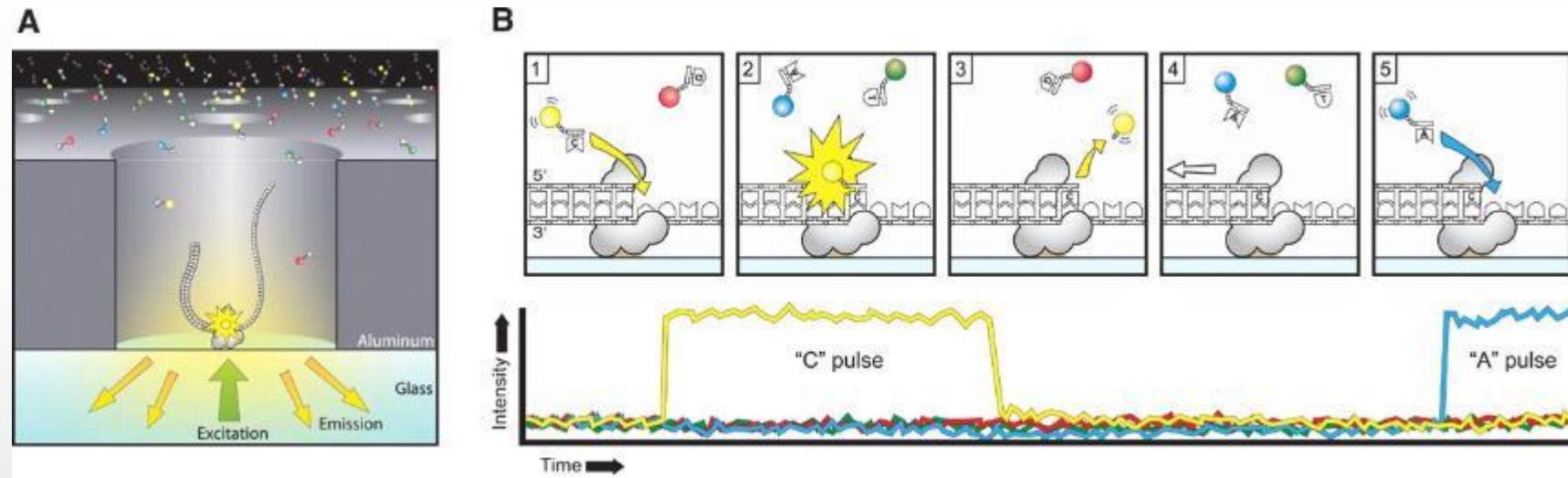
## NextSeq 500 Sequencing System

FC config NextSeq 500	Read Length	Output Gb	Run Time hours
High output Up to 800M PE reads	2*150	120	29
	2*75	50-60	18
	1*75	25-30	11h
Mid output Up to 260 M PE reads	2*150	32-39	26
	2*75	16-19	15h



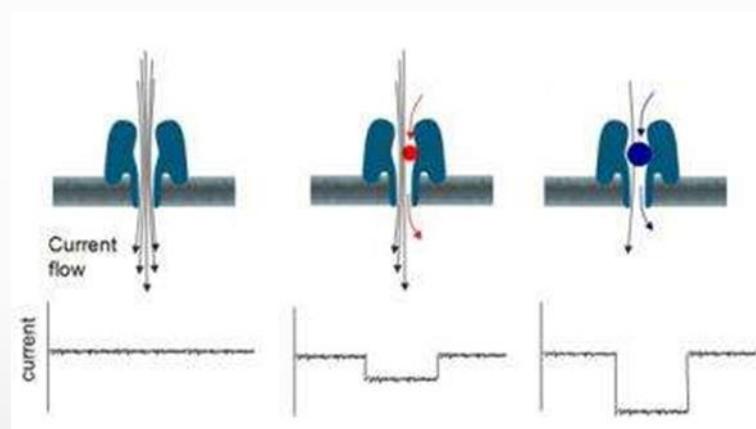
- **HiSeq Xten** 1000 \$ pour le séquençage d'un génome humain ( 3x 30 Gb)
- **Par machine:**
  - 5 whole human genomes (30X) /day
  - or generate 1.8 terabases of sequence /3 days

## SMRT Sequencing w PACBIO RSII



Séquençage Tournesol INRA\_Toulouse:  
Longueur moyenne « séquences corrigées »: 11 Kb  
Longueur maximal « séquences corrigées »: 59 kb

## Oxford Nanopore Technology



Taille des reads: 5 à 50 kb  
Nombre de reads: 100 000

# *ANALYSER LES RÉGULATIONS: LE TRANSCRIPTOME*

- Analyse de la régulation des gènes
  - Comment fait on?: à partir de l'ARN, utilisation d'une Reverse Transcriptase pour passer de l'ARN à l'ADN
  - qPCR
  - Utilisation de « puces » (micro array, chip)
  - RNA-seq

# *DE PLUS EN PLUS RAPIDE ET MOINS CHER.....*

- En 2000, le séquençage du premier ADN humain, en 10 ans et 1000 millions \$
- En 2006, séquençage de l'ADN de Craig Venter, en 4 ans et pour 100 millions \$
- En 2007, le séquençage de l'ADN de James Watson en 4 mois et pour 1,5 million \$
- En 2016, le séquençage d'un ADN humain est de 2-3 jours et 1000\$

## SUR LES PLANTES:

- 1508 fichiers de séquençage total au NCBI sur une cinquantaine d'espèces végétales
- Puces de génotypages à haut débit:
  - Entre 10 000 et 20 000 marqueurs ( Vigne, Colza, Pois, Peuplier, Pomme de terre, Tomate)
  - Entre 20 000 et 100 000 marqueurs ( Colza, Blé, Maïs, Tomate, Blé,...)
  - De 400 000 à 600 000 ( Maïs, Tournesol, Blé, Riz)

## QUELQUES MESSAGES

- Technologies en pleine évolution
- Mais contraintes:
  - Qualité de l'ADN et estimation des quantités
  - Runs plus ou moins longs
- Coûts
- *Nécessité absolue de l' informatique pour gérer ( bases de données, accès internet, archivage,...)et de la bio-informatique pour analyser l'information les données produites.*

### *III. Des Applications*

- La génomique offre la possibilité de mieux comprendre le fonctionnement des organismes vivants en permettant d'acquérir de nouvelles connaissances sur :

- **l'organisation globale des génomes:**

- **Annotation des génomes pour identifier les différentes informations ( gènes, séquences régulatrices, éléments transposables)**

- mise en évidence des caractéristiques inattendues de l'ADN: très fort pourcentage de parties non codantes, l'existence de zones dupliquées, d'éléments mobiles...

- **l'évolution:**

- Les comparaisons entre génomes, l'étude de la répartition de mutations particulières dans les populations... donnent des informations sur les filiations entre espèces.

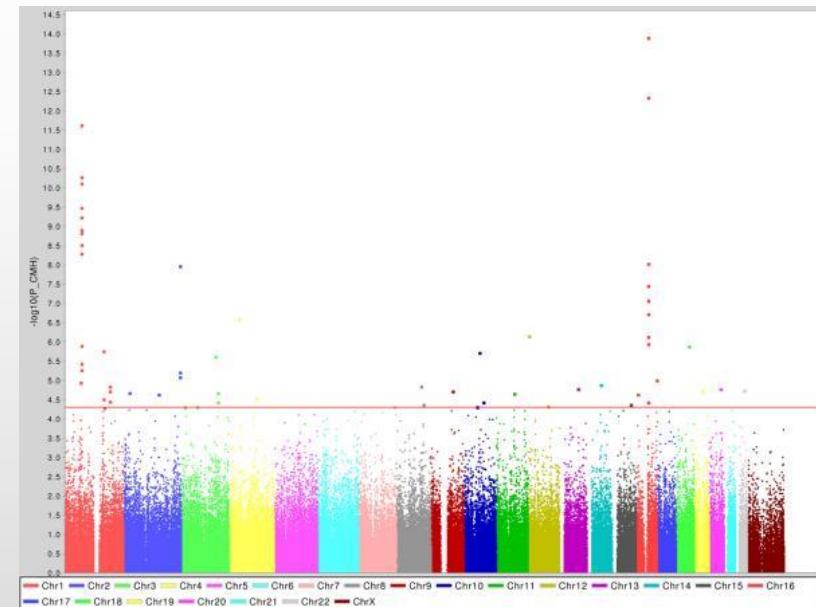
- Beaucoup d' autres applications très diverses
  - Structure génétique des populations
  - Étude de l'apparentement entre des individus: paternité, fraude,
  - Cartographie génétique: maladies héréditaires
  - Régulation des gènes, modélisation des réseaux de gènes

# **CHEZ L'HOMME ....**

- Deux illustrations

# IDENTIFICATION DE 5 GENES IMPLIQUES DANS LA MALADIE DE CROHN PAR WHOLE GENOME ASSOCIATION « WGA »

- Echantillon de 1923 individus
  - 946 patients
  - 977 non malades
- 304 000 SNP (Illumina Infinium)



J.Rioux et al Nature Genetics 2007

# ANALYSE D'UN MILLION DE PAIRES DE BASES SUR DE L'ADN DE L'HOMME DE NÉANDERTHAL.

- Nature **444**, 330-336 (2006), Richard E. Green et al, Science (2007) Krause et al.
- Identification d'un fossile néanderthalien agé de 38 000 ans, exceptionnellement indemne d ' « ADN humain moderne »
- Séquençage à haut débit direct de l'ADN extrait de ce fossile a permis d'obtenir un million de bases d'ADN nucléaire « hominidé »
- La comparaison avec les séquences d'homme et de chimpanzé révèle que les génomes de l'homme moderne et néanderthalien divergent depuis environ 500 000 ans.
- Présence d'une séquence « normale » du gène FOXP2, ayant un rôle actif dans le développement des zones du cerveau liées à l'apprentissage du langage.

## *SUR LES PLANTES....*

- Analyser de la variabilité génétique et de l'évolution des populations pour une meilleure gestion des ressources génétiques
- Identifier des gènes contrôlant les caractères agronomiques ( résistances aux pathogènes, aux stress abiotiques, qualité, ...) par la mise en évidence de corrélation génotype/phénotype.)
- Faciliter la sélection « classique » par la « sélection assistée par marqueurs » ou par la nouvelle approche de la « sélection génomique »
- Permettre le contrôle du matériel ( identification variétale, OGM,...)

## **PLUSIEURS STRATÉGIES TECHNOLOGIQUES:**

**I. Re-sequençage complet et/ou génotypage à haut débit**

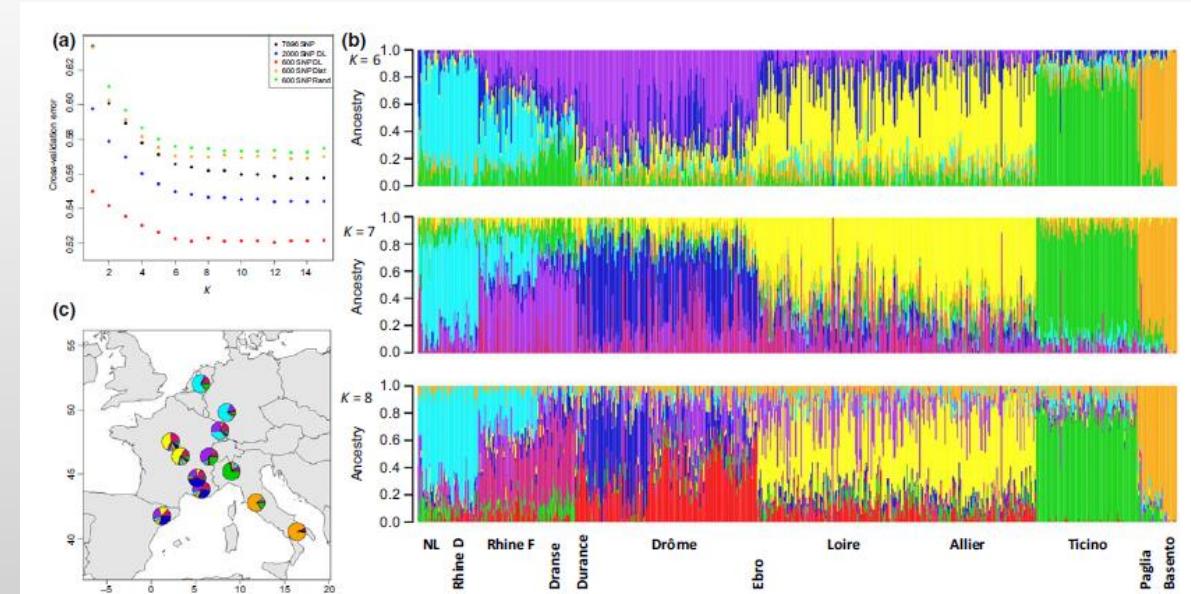
**II. Réduction génomique et/ou génotypage à moyen débit**

Dépend des moyens financiers, des moyens informatiques et bio-informatiques, de l'importance de l'échantillon, des délais,.....

# I. RE-SEQUENÇAGE COMPLET ET/OU GÉNOTYPAGE À HAUT DÉBIT

- Exemple du Peuplier (*Populus nigra*)  
P.Faivre-Rampant et al 2016, Mol.Ecol.Resources 16, 1023-1036

- Séquençage total 51 individus
- Création d'une puce de génotypage (12 000 SNP)
- Génotypage de 888 individus
- Résultats par analyse « ADMIXTURE »

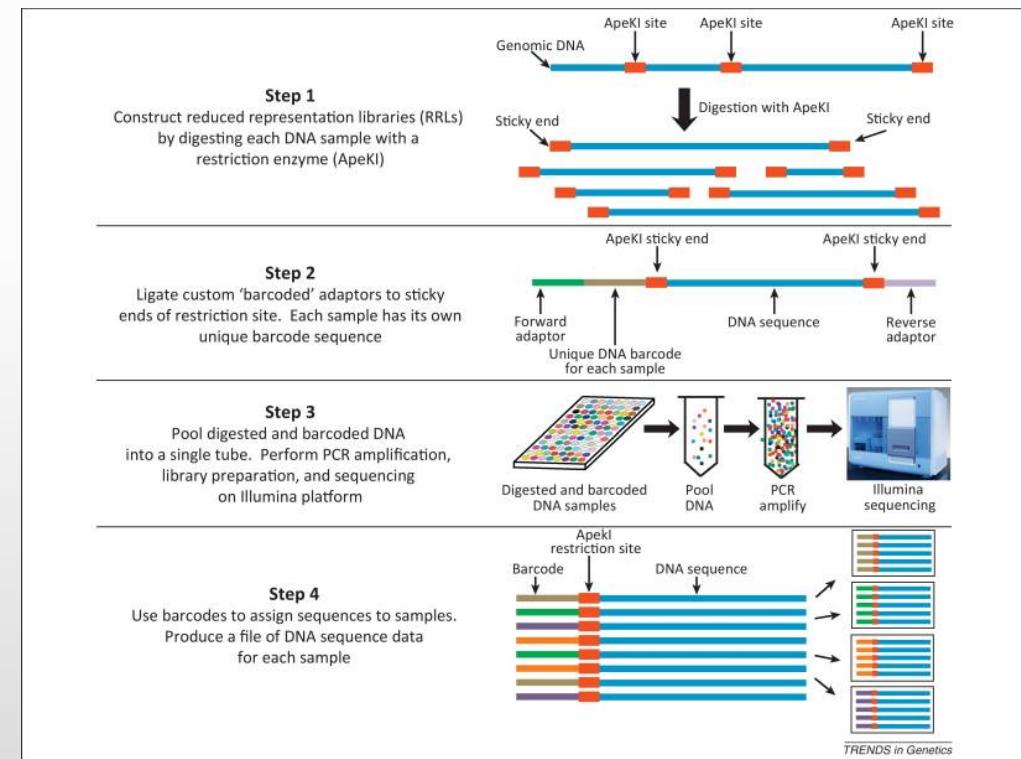


## II. RÉDUCTION GÉNOMIQUE ET/OU GÉNOTYPAGE À MOYEN DÉBIT

1. Par digestion enzymatique: GBS ou RAD-Seq
2. Par hybridation: capture
3. **Par amplification: Amplicon sequencing dont le meta-barcoding.**
4. **Sequençage à partir de l 'ARN, approche pour les espèces orphelines**

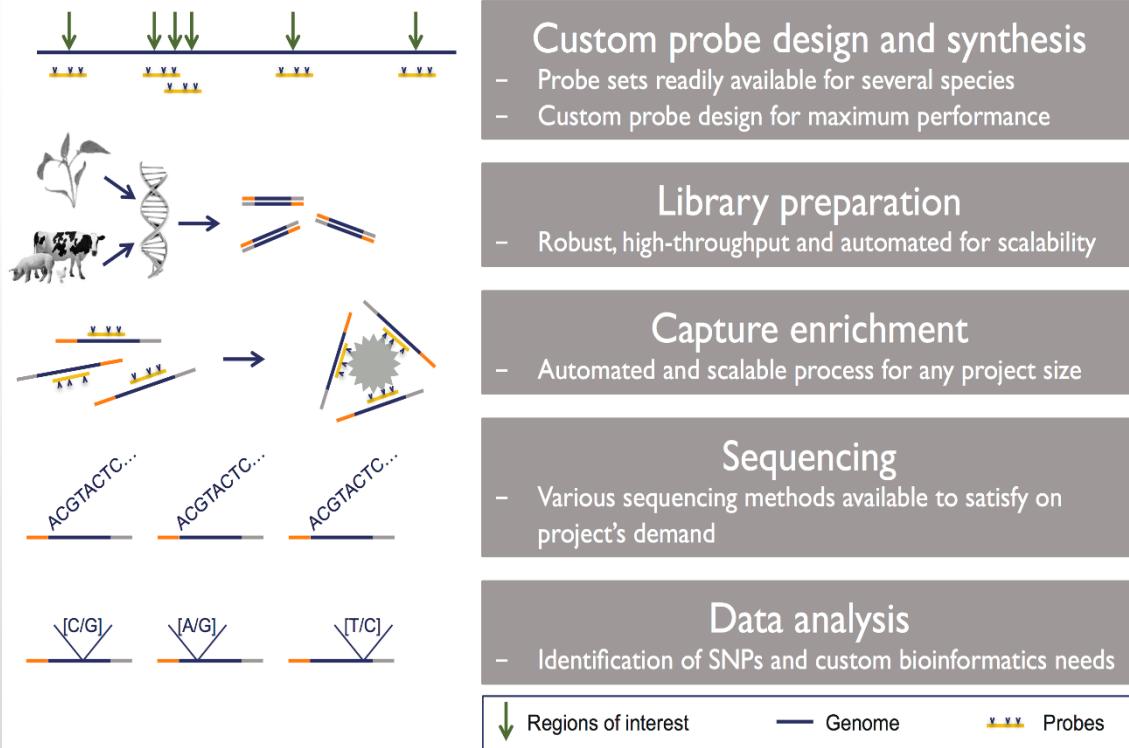
# II. RÉDUCTION GÉNOMIQUE ET/OU GÉNOTYPAGE À MOYEN DÉBIT

## 1. Réduction par digestion enzymatique GBS (Genotyping By Sequencing)

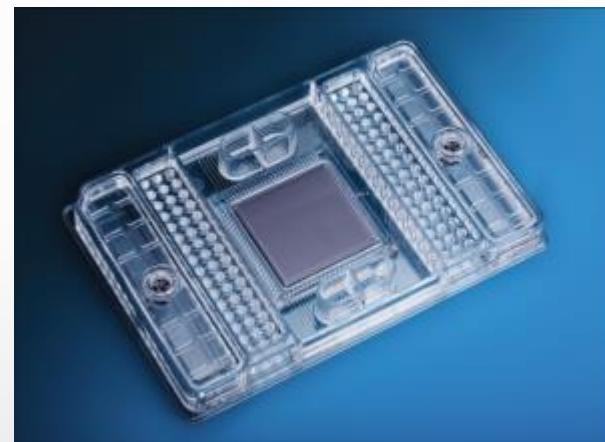
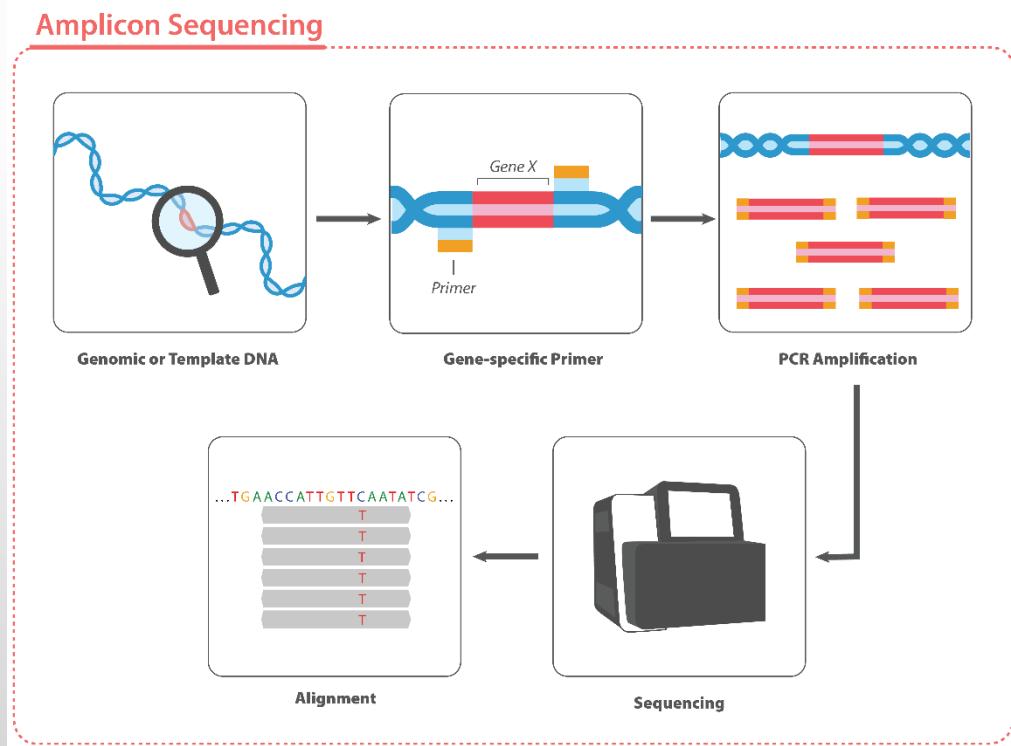


S.Myles, Trends in Genetics vol 29, 2013

## • 2. Capture



- 3. Amplicon sequencing



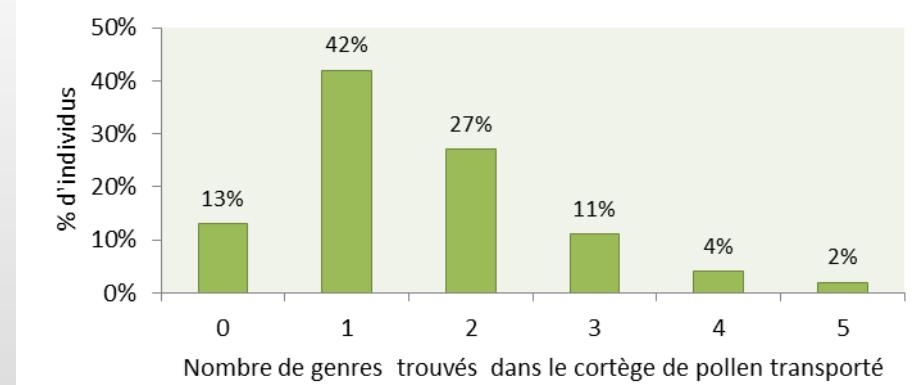
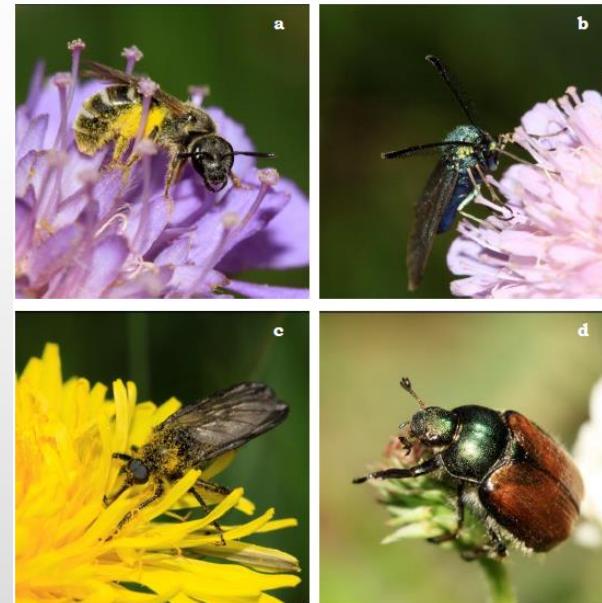
Fluidigm Access Array: 48 couples x 48 individus

## Application 1: Développement de la Sélection Assistée par Marqueurs (S.A.M) sur la Vigne ( Yang et al 2016)

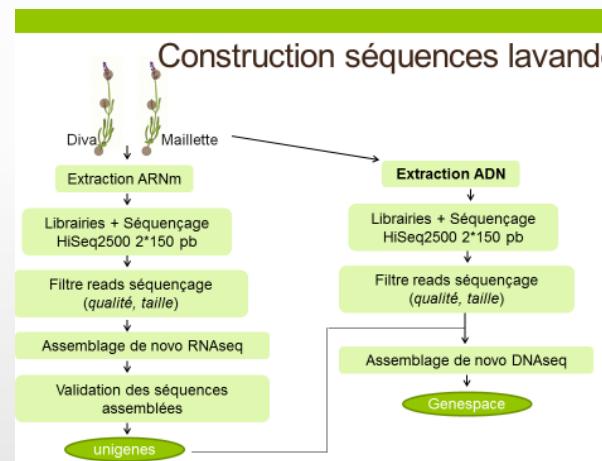
- Trois caractères: flower sex, disease resistance and acylated anthocyanins
- 31 amplicons, 380 individus, 1 run de Miseq
- 99% des séquences obtenues (reads) sont les régions recherchées
- 85 % des amplicons ont 10% de données manquantes.

- Application 2: le barcoding et meta-barcoding
- Le projet « Barcode of Life ou BOLD » proposé par P. Hebert ( Université de Guelph Ontario, Canada )
- Constitution d'une « bibliothèque » des espèces en utilisant des « codes barres génétique » identifiant chaque espèce vivante à partir d'un marqueur
  - chez l'animal 648 bases du gène mitochondrial de Cytochrome Oxydase COI
  - Chez les bactéries 16 S ou 18S
  - Chez les plantes ITS2 (37,435 different plant species and 6162 genera), rbcL ou matK.

# MÉTA-BARCODING SUR LES POLLENS TRANSPORTER PAR LES INSECTES DANS LES PRAIRIES



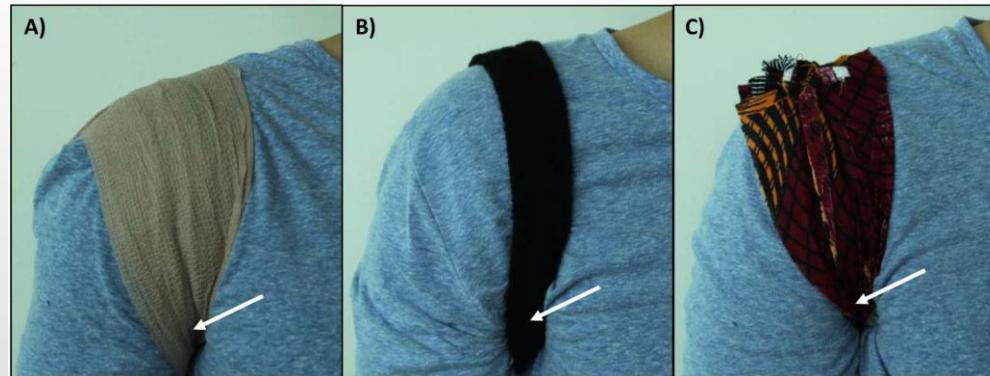
- 4. RNA-Seq et séquencage de novo d'espèces orphelines
- Exemple de la Lavande (*Lavandula angustifolia*)



- Validation par comparaison avec les bases de données de protéines « Uniprot et SwissProt
- **Construction 9446 séquences de référence lavande (21Mb)**

# EN CONCLUSION: LA GÉNOMIQUE DESCEND SUR LA TERRAIN

## 1. PCR à température « humaine »:



Crannell et al Plos One 2014

## 2. Kit de détection de parasite:

ANOVA-PLUS, lance la commercialisation du premier test ADN hors laboratoire pour la détection de la flavescence dorée: « VITIKIT®<sub>FD</sub> »



### 3. Séquençage en temps réel et sur le terrain pour la surveillance d'Ebola.

- Utilisation d'un séquenceur MinION sur le terrain.
- Identification d'un échantillon moins de 2 jours (RT-PCR, amplification, préparation des librairies, séquençage en 15 à 60 minutes, bio-informatique)
- Problèmes des coupures d'électricité surtout pour les machines PCR, développement de machine PCR avec batteries, PCR isothermes, bases de données off-line)



Figure 1 | Deployment of the portable genome surveillance system in Guinea. a, We were able to pack all instruments, reagents and disposable consumables within aircraft baggage. b, We initially established the genomic surveillance laboratory in Donka Hospital, Conakry, Guinea. c, Later we moved the laboratory to a dedicated sequencing laboratory in Coyah prefecture. d, Within this laboratory we separated the sequencing instruments (on the left) from the PCR bench (to the right). An uninterruptible power supply can be seen in the middle that provides power to the thermocycler. (Photographs taken by J.Q. and S.D.)

Quick et al Nature Letter 2016



**MERCI POUR VOTRE ATTENTION**