IIIème workshop du laboratoire BIOMOLIM - Immunoinformatique - Analyse du transcriptome par approches haut-débit.

null

29 mai au 2 juin - Auditorium de la faculté SNV-TU - Algérie.

Table of Contents

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  |  |  |

## Organisateurs

* Dr. Salvatore SPICUGLIA
* Pr. Mourad ARIBI

## Equipe pédagogique

* Salvatore Spicuglia (Chercheur Inserm, TAGC, Marseille)
* Denis Puthier (Maitre de Conférences Aix-Marseille Université, TAGC, Marseille)
* Eve-Lyne Mathieu (Ingénieur de Recherche Inserm, TAGC, Marseille)
* Mohamed Belhocine (doctorant, Aix-Marseille Université, TAGC, Marseille)
* Yasmina Kermezli (doctorante, Université de Tlemcen)
* Wiam Saadi (doctorante, Université de Tlemcen)
* Lynda Klouche
* Djamel Smahi
* Warda Meziane
* Zeyneb Hadjidj
* Zineb Mekkaoui
* Sana Boualitabet Helal

## Objectifs

Maîtriser les aspects bioinformatiques et expérimentaux de l'analyse du transcriptome à grande échelle.

* Stimulation d'une lignée lymphocytaire T par traitement PMA/Ionomycine.
* Analyse bioinformatique des données RNA-seq produites.
* Validation expérimentale par RT-PCR.

## Site Web

Le site web du workshop est disponible sur github à l'adresse suivante:

* <http://yasminekzl.github.io/Tlemcen_workshop_2016/index.html>

## Programme

Vous trouverez ci-dessous le programme des enseignements. Ils auront lieu chaque jour jusqu'à 18h.

**Dimanche 29 Mai**

|  |  |
| --- | --- |
| Horaire | Contenu |
| 9h00 | Mots d'ouverture (Pr. Mourad) |
| 9h20 | Présentation du workshop et introduction générale (Spicuglia/Mathieu/Puthier) |
| 10h30 | Pause café |
| 10h45 | Introduction à l'étude de l'ARN et les techniques associées (Spicuglia/Puthier) |
| 12h00 | Déjeuner |
| 13h30 | Traitement de données RNA-seq I (Puthier/Belhocine/Kermezli) |
| 15h15 | Pause café |
| 15h30 | Traitement de données RNA-seq II (Puthier/Belhocine/Kermezli) |

**Lundi 30 Mai**

|  |  |
| --- | --- |
| Horaire | Contenu |
| 9h00 | Cours théorique sur la régulation épigénétique au cours du développement et des maladies (Spicuglia) |
| 10h30 | Pause café |
| 10h45 | Quantification de l'expression de gènes (Puthier/Belhocine/Kermezli) |
| 12h00 | Déjeuner |
| 13h30 | Identification de gènes différentiellement exprimés I (Puthier/Belhocine/Kermezli) |
| 15h15 | Pause café |
| 15h30 | Visualisation des données RNA-seq (Puthier/Belhocine/Kermezli). |

**Mardi 31 Mai**

|  |  |
| --- | --- |
| Horaire | Contenu |
| 9h00 | Cours théorique. LncRNAs |
| 10h30 | Pause café |
| 10h45 | Préparation du cDNA (Mathieu/Saadi) |
| 12h00 | Déjeuner |
| 13h30 | Etude de l'expression des gènes par PCR (Mathieu/Saadi) |
| 15h15 | Pause café |
| 15h30 |

**Mercredi 01 juin**

|  |  |
| --- | --- |
| Horaire | Contenu |
| 9h00 | Analyse de résultats de PCR par électrophorèse sur gel d'agarose (Mathieu/Saadi) |
| 10h30 | Pause café |
| 10h45 | Révélation de résultats (Mathieu/Saadi) |
| 12h00 | Déjeuner |
| 13h30 | Interprétation des résultats de PCR (Mathieu/Saadi) |
| 15h15 | Pause café |
| 15h30 | Etude des Voies de régulation affectées (Puthier/Belhocine/Kermezli) |

**Jeudi 02 Juin**

|  |  |
| --- | --- |
| Horaire | Contenu |
| 9h00 | Etude des Voies de régulation affectées (Puthier/Belhocine/Kermezli) |
| 10h30 | Pause café |
| 10h45 | Rédaction d'un rapport synthétique |
| 12h00 | Déjeuner |
| 13h30 | Discussion ouverte |
| 15h15 | Pause café |
| 15h30 | Conclusions |
| 20h00 | Diner de clôture |

## Cours théoriques

Les présentations des intervenants sont disponibles sur le site web du worshop.

| Nom | Description  
|-----|------------------------------------------------------ | [Présentation de D. Puthier](slides/rna-seq_2015-polytech.pdf)| Le monde des ARNS. Traitement des données RNA-Seq. | Présentation de S. Spicuglia | Régulation épigénétique | Eléments de classification | Introduction au clustering. |Présentation de Eve-Lyne Mathieu | LncRNAs: Rôles régulateurs dans le système immunitaire. ---------------------------------------------

## Phases pratiques

Le matériel pédagogique pour les phases pratiques est disponible sur le site web du worshop.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Nom | Concepts traités | Outils |
| [Tutoriel RNA-Seq](practical/rna_seq_galaxy/rnaseq_td_galaxy.html) | Traitement de données RNA-Seq | Galaxy server, TopHat, FastQC, cufflinks, cuffmerge, IGV, samtool flagstat, UCSC genome Browser, UCSC FTP web site, Ensembl gene search, R... |
| [R quick tour](practical/R_first_steps/quick_tour.html) | Opérations de base avec R (réalisée sous forme de démo durant les TP) | R, RStudio |
| [PCR]) | Protocole pour la réalisation d'un RTPCR | PCR, RT-PCR, Electrophorèse... |

### Présentation succincte des étapes bioinformatiques

1.Récupération des données brutes de séquençage (RNA-Seq) sous forme de fichier *FASTQ*: Le format FASTQ est un format de fichier texte permettant de stocker à la fois des séquences biologiques (uniquement des séquences nucléiques) et les scores de qualité associés.

2.Controle qualité des *reads* par l'outils [Fastqc](https://usegalaxy.org/root?tool_id=toolshed.g2.bx.psu.edu%2Frepos%2Fdevteam%2Ffastqc%2Ffastqc%2F0.64) de l'UCSC.

3.Alignement des *reads* contre le génome de référence avec l'outils [Tophat](https://ccb.jhu.edu/software/tophat/index.shtml)

4.Visualisation de résultats (sous format [*.bam*](http://samtools.github.io/hts-specs/SAMv1.pdf)) (Binary Alignment/Map) avec [IGV](https://www.broadinstitute.org/software/igv/log-in) (Integrated Genome Viewer)

5.Comptage des *FPKMs* (fragments per kilobase of exon per million fragments mapped) avec [Cufflinks](http://cole-trapnell-lab.github.io/cufflinks/cuffdiff/) en utilisant le genome de référence sous forme d'un fichier [*GTF*](http://www.ensembl.org/info/website/upload/gff.html) (Gene transfer format)

6.Etablir une liste de gènes différentiellement exprimés avec le package DESeq2 sur logiciel R.

7.Analyse d'enrichissement fonctionnel avec [DAVID](https://david.ncifcrf.gov/).

8.Validation par PCR des Candidats trouvés.

## Ressources web

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Nom | Lien | Description |
| site web d'Illumina | <https://www.illumina.com/> | De nombreuses vidéo de présentation des technologies. |
| site web d'Oxford Nanopore | <https://www.nanoporetech.com/> | Présentation du MiION et des ses applications. |
| site web de package Deseq2 | <https://bioconductor.org/packages/release/bioc/html/DESeq2.html> | Analyse de l'expression différentielle via la distribution binomiale négative. |
| Navigateur de génome de l'UCSC | [://genome.ucsc.edu/](https://genome.ucsc.edu/) | Base de données d'information sur les génomes. |
| Navigateur de génome Ensembl | <http://www.ensembl.org/> | Base de données d'information sur les génomes. |