

MAPPING clé: valeur



NE PAS faire de réarrangement

**TAG-PCR** 

\* éch. T neg PCR(1) et (2)

(Normalisation)

Échantillons CAM dans process simple pcr

2 témoins négatifs CEB (ayant déjà eu une pcr) obligatoirement

Contrôle cas NESTED = container in contient la propriété témoin négatif PCR (exclusion projet CEA et CAM)

MÊME type ech : amplicon MÊME code projet Nouveau sample

MAPPING PROJET automatique:

clé : valeur

sinon valeur : valeur

**16S FL 27F/1492R +** Fuhrman primers 16S\_Full Length + 16S\_V4V5

si l'utilisateur se trompe, NGL force région ciblée et primers et protocole (dans le cas NESTED)

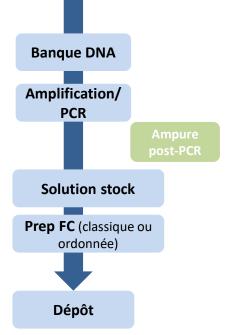
Exemple BUR\_AAAB; ...; CEB\_AC\*; CEB\_AD\*

+ CAN\_A, CAN\_B...

+ 1 ou 2 CAM

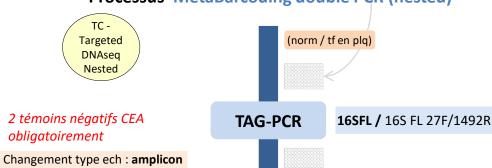
(\* écrase ancienne valeur de témoin neg)

les sorties CEB dont le parent avait DÉJÀ subi une PCR sont ceux à copier dans prop. Témoin neg PCR 1 et 2



Échantillons d'intérêt + CEA dans process <u>double pcr</u>





Changement type ech : amplicon
Changement code projet
Nouveau sample

<u>N</u>

NE PAS faire de réarrangement

Exemple BUR\_AAAA ; ... ; CEB\_AA\* ; CEB\_AB\*

(Normalisation)

\* éch. T neg PCR(1) et (2)

Échantillons CAM dans process simple pcr

2 témoins négatifs CEB (ayant déjà eu une pcr) obligatoirement

**TAG-PCR** 

**16S FL 27F/1492R +** Fuhrman primers 16S\_Full Length + 16S\_V4V5

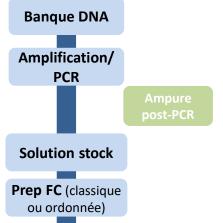
si l'utilisateur se trompe, NGL force région ciblée et primers et protocole (dans le cas NESTED)

À la 1<sup>ère</sup> sauvegarde expérience

MÊME type ech : amplicon MÊME code projet Nouveau sample Exemple BUR\_AAAB; ...; CEB\_AC\*; CEB\_AD\*

+ CAN\_A, (\* écrase ancienne valeur de témoin neg) CAN\_B...

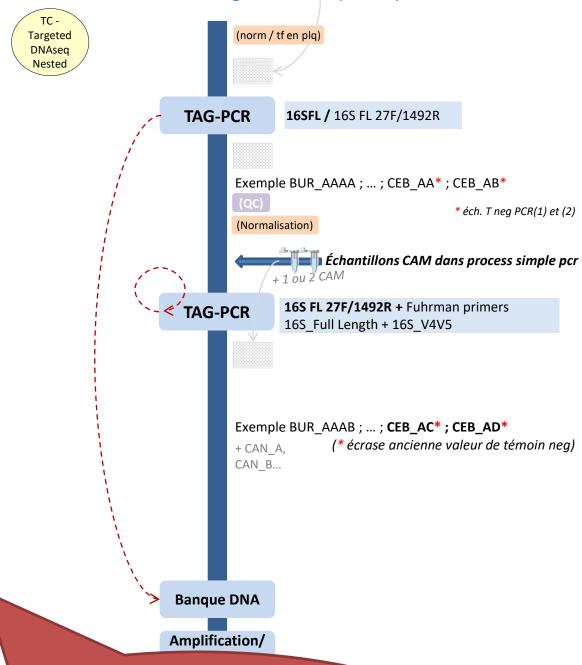
les T.neg qui entrent juste dans la 2ème PCR auront une valeur de content et sample erronée pour région ciblée et amorce : 16SFL+V4V5 au lieu de V4V5 uniquement. Mettre un COMMENTAIRE sur le container dans l'expérience pour préciser que c'est du V4V5 uniquement!



Dépôt



## Processus MetaBarcoding double PCR (nested)



## Cas d'erreurs possibles non détectables par NGL :

- Boucler plusieurs fois sur la 2ème TAG-PCR
- Oublier la 2ème tag-pcr pour aller directement en banque DNA
- Réarrangement plaque entre 1ère et 2ème PCR (exemple: mélange de IN avec T nég A, B et T nég C, D => les 2 T nég mis lors de la 2ème PCR (C, D) l'emportent et ce sera C' et D' mis en T nég pour tous; donc check contam avec C' D' alors que ce n'est pas pertinent pour les tag faits avec T neg A, B