



Le séquençage haut débit ou NGS

SOMMAIRE



**Principe du
séquençage
NGS**



**La réalisation
de la librairie
/ capture**



**Organisation
hebdomadaire**

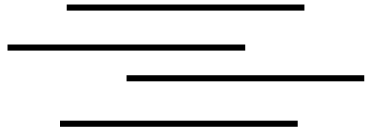


La technologie

Principe du séquençage NGS

LIBRAIRIE

Fragment d'ADN



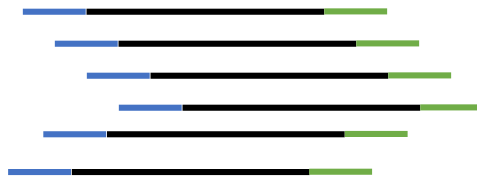
Fragment d'ADN plus adaptateur



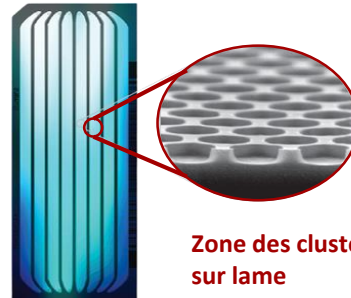
Chargement de la librairie



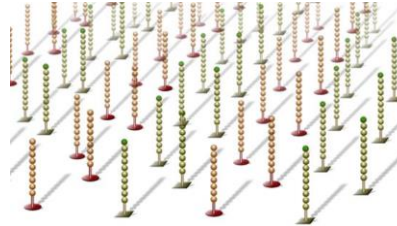
Librairie



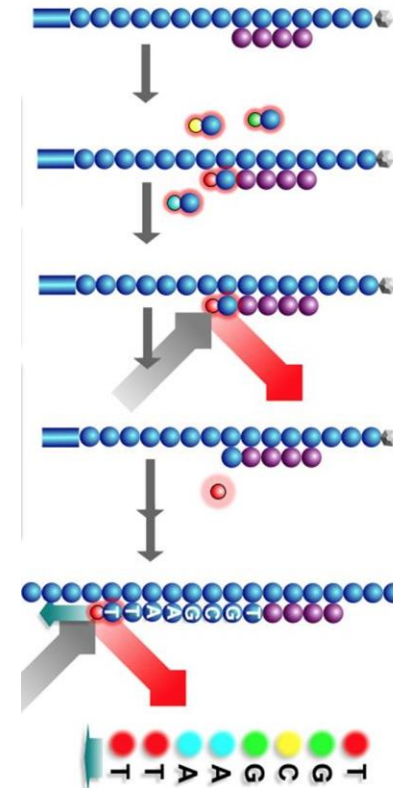
Réalisation des clusters



Zone des clusters sur lame



Synthèse SBS



Analyse des données

- ✓ Fichier output Fastq
- ✓ Envoi par DDM
- ✓ Récupération des fichiers analysés
- ✓ Analyse des données via :

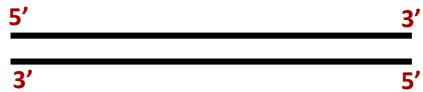
 SOPHiA DDM®

Réalisation de la librairie NGS

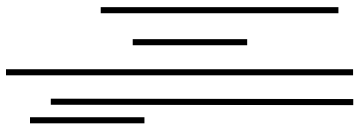
J1 entre 7 et 9 heures

La fragmentation

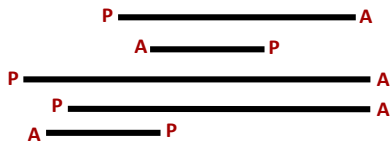
Dilution d'ADN 200 ng



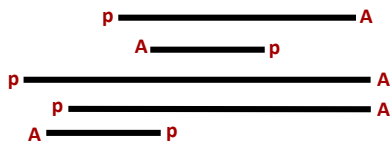
Fragment de l'ADN



Réparation et ajout d'une base A



Ligation des index



+



Ligation



PCR amplification

✓ Après lavage post-ligation et une double sélection des produits de ligation.

✓ Une double sélection des produits de ligation allant de 250 à 700 pb.

✓ On amplifie les produits de ligation sélectionnés par PCR de 8 cycles afin d'augmenter la quantité de fragment.

J2 7 heures

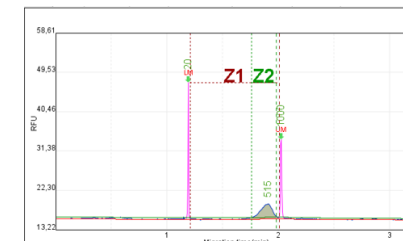
Quantification et contrôle de qualité



✓ Quantification sur un Qubit 4 par fluorimétrie.



✓ Contrôle de la taille des fragments par migration capillaire.



✓ Mélange des librairies

J3 entre 7 et 9 heures

Hybridation et capture

✓ Hybridation des régions étudiées 4h à 65°C

✓ Capture sur bille de streptavidine

✓ Lavage des billes de streptavidine

✓ Amplification post-capture

✓ Lavage de l'amplification post-capture

✓ Quantification et contrôle de qualité de la librairie



La Technologie ILLUMINA

- ✓ Séquenceur moyen débit deux couleurs
- ✓ Jusqu'à 180 Gb de données par run
- ✓ Deux types de cartouche P1 et P2
- ✓ Cartouche et flow cell faciles à utiliser
- ✓ Equipé de deux processeurs microserveur
- ✓ Equipé de 288 GB de RAM
- ✓ Un disque dur en flash de 4 T
- ✓ Un système sur une base LINUX: CentOS 7.6