



**cgfb**

GÉNOME TRANSCRIPTOME

Plateforme  
Génome  
Transcriptome  
de Bordeaux

# Catalogue des analyses et services

Version : 10.04.18



# Table des matières

Bienvenue sur la Plateforme Génome Transcriptome de Bordeaux !.....	3
Vous souhaitez réaliser un projet ? .....	4
Vous souhaitez utiliser un équipement, un espace de travail, ou réaliser vos analyses ? .....	4
Doser des acides nucléiques .....	5
Détecter par PCR .....	6
Détecter par qPCR.....	7
Détecter par dd-PCR.....	8
Robotiser .....	9
Séquençage Long Reads.....	10
Séquençage sur PROTON .....	11
Séquençage sur MiSeq .....	12
Génotypage sur MassARRAY.....	14
Génotypage sur qPCR.....	15
Utiliser le Fluidigm Access Array System 48.48 .....	16
Accès au laboratoire confiné .....	17
Logiciels d'analyse des données de séquençage .....	18
Logiciels d'analyse des données de génotypage .....	18
Accès .....	19
Contacts .....	20

# Bienvenue sur la Plateforme Génome Transcriptome de Bordeaux !

La Plateforme Génome Transcriptome de Bordeaux (PGTB) est une structure académique spécialisée en séquençage et en génotypage. Elle fait partie d'un réseau de sept plateformes technologiques intégrées dans le Centre de Génomique Fonctionnelle de Bordeaux (CGFB). Elle est née de la volonté de l'Université de Bordeaux et de l'INRA de mutualiser des compétences, des moyens technologiques et humains pour la communauté scientifique.



La PGTB apporte ses services et son savoir-faire pour des projets régionaux, nationaux et internationaux dans des domaines aussi variés que la recherche forestière, la vigne et le vin, la microbiologie, l'agronomie, l'environnement et la santé. Elle a pour vocation de satisfaire les besoins en génotypage et en séquençage liés aux activités de recherche des laboratoires, et d'être un centre ouvert à l'ensemble de la communauté scientifique académique (INRA, CNRS, INSERM, Universités...) et aux acteurs industriels.

La PGTB met tout en œuvre pour assurer un bon fonctionnement à tous niveaux : organisation de l'activité, formation des utilisateurs et du personnel, suivi des projets et des analyses, et gestion du matériel. Pour ce faire, elle est engagée dans une démarche qualité (certifications ISO 9001 et NFX 50-900) afin de garantir la qualité des manipulations réalisées et des données produites, et de satisfaire les exigences de ses collaborateurs.

Dans ce catalogue vous trouverez toutes les informations et recommandations concernant les services proposés. S'il vous reste des questions à l'issue de votre lecture, n'hésitez pas à vous rapprocher du personnel de la PGTB. Vos éventuelles remarques nous seront utiles dans le cadre de l'amélioration continue de nos services.

Egalement, vous pouvez suivre les actualités de la PGTB sur notre [site internet](#) et sur notre [compte twitter](#).

L'équipe de la PGTB

## Vous souhaitez réaliser un projet ?

La PGTB met à disposition des utilisateurs ses [conditions générales](#) sur son site internet. Vous y trouverez toutes les étapes à suivre pour engager votre projet sur la PGTB, ainsi que des informations sur les engagements mutuels, la confidentialité des projets, la propriété intellectuelle et la valorisation des données et des méthodes. Une fois votre projet engagé, veuillez suivre nos [recommandations pour l'envoi des échantillons](#) également disponibles sur notre site internet.

## Vous souhaitez utiliser un équipement, un espace de travail, ou réaliser vos analyses ?

Vous avez la possibilité de réaliser vous-mêmes certaines analyses et/ou d'utiliser certains équipements ou espaces de travail mis à votre disposition dans nos locaux après « formation » par un personnel de la PGTB.

Pour chaque analyse et équipement mentionné dans ce catalogue, vous pourrez voir dans le paragraphe « Accès » si vous pouvez être « formé » à la réalisation de l'analyse ou l'utilisation de l'équipement.

En fonction de l'analyse ou de l'équipement, la PGTB réalise deux types de « formations » :

- **la mise en autonomie**, qui se déroule au moins sur les 2 premières analyses ou utilisations de l'équipement ; l'utilisateur regarde manipuler le personnel de la PGTB, puis l'utilisateur manipule sous la surveillance d'un personnel de la PGTB,
- **l'information**, où l'utilisateur est brièvement informé du mode de fonctionnement de l'équipement ou de la façon de réaliser l'analyse par un personnel de la PGTB.

Pour tout utilisateur amené à travailler dans nos locaux, nous lui assurerons une visite de la PGTB avec toutes les consignes de traçabilité, d'hygiène et de sécurité, d'accès et d'utilisation des laboratoires, et nous lui remettrons notre livret d'accueil.

# Préparation d'échantillons

## Doser des acides nucléiques

### Analyses

L'utilisateur a le choix entre 4 types d'analyses :

1. Dosage sur Nanodrop ND-8000, basé sur la mesure de la densité optique, pour le dosage d'ADN et d'ARN à l'échantillon ou par plaque 96,
2. Dosage sur Biotek Synergy H1, basé sur la mesure de la densité optique ou de la fluorescence (kit Quant-it dsDNA BR), pour le dosage à l'échantillon ou par plaque 96,
3. Dosage sur Qubit, basé sur la fluorescence permettant de doser et déterminer la quantité d'ADN db à l'échantillon,
4. Dosage sur Bioanalyzer 2100 (kits 50-7000 DNA HS et RNA 6000 Nano) et TapeStation 4200 (kits genomic DNA, HS D1000 et HS RNA), basé sur la micro-fluidique permettant de quantifier et déterminer la qualité d'amplicons, d'ADN et d'ARN.



### Accès

L'utilisateur peut doser les échantillons sur la PGTB après mise en autonomie. La PGTB peut réaliser ces prestations uniquement pour les utilisateurs hors région Bordelaise sous réserve de disponibilités. La fourniture des réactifs et consommables par la PGTB est obligatoire.

### Echantillons

Les échantillons doivent être en plaque 96 pour le dosage de plus de 8 échantillons, sinon les échantillons doivent être en tube. Le volume minimal à fournir est de 10  $\mu$ L. L'utilisateur peut stocker les échantillons sur la PGTB le temps du projet.

### Contrôles

Une gamme étalon est réalisée pour le dosage sur Biotek Synergy H1 (6 points) et sur Qubit (2 points). Pour le Bioanalyzer 2100 et la TapeStation 4200, un marqueur de taille valide l'analyse.

### Résultats

Les données générées doivent être sauvegardées par l'utilisateur. L'utilisateur peut directement récupérer les résultats sur clef USB lorsqu'il réalise lui-même la manipulation. Les résultats peuvent être déposés sur un serveur soumis à un accès par identifiant et mot de passe réservé à l'utilisateur, ou envoyées par mail à l'utilisateur.

### Confidentialité

Les utilisateurs qui utilisent ces équipements peuvent avoir accès aux données antérieures (base de données commune). Pour que les données soient confidentielles, il est recommandé à l'utilisateur d'anonymiser le nom de son projet et de ses échantillons.

# Préparation d'échantillons

## Détecter par PCR

### Analyses

La PGTB met à disposition des utilisateurs 4 blocs 96 et 2 blocs 384 Veriti (Life Technologies) pour la réalisation de PCR « classiques ».

L'utilisateur a le choix entre 2 analyses :

1. PCR simplex avec le kit Hot Start 5X Firepol Blend Master Mix (SolisBiodyne) en Ready to Load ou non,
2. PCR multiplex avec le kit Multiplex PCR (QIAGEN) ou le kit Hot Start 5X Firepol Blend Master Mix (SolisBiodyne).

### Accès

Les PCR « classiques » en simplex et en multiplex peuvent être réalisées par l'utilisateur sur la PGTB après mise en autonomie. La PGTB peut réaliser ces prestations uniquement pour les utilisateurs hors région Bordelaise sous réserve de disponibilités. La fourniture des réactifs et consommables par la PGTB est obligatoire.

### Echantillons

Les échantillons doivent être en plaque 96 ou 384. Les concentrations et volumes d'échantillons sont spécifiques du protocole utilisé. La PGTB peut vous proposer des protocoles pour démarrer vos tests. L'utilisateur peut stocker les échantillons sur la PGTB le temps du projet.

### Contrôles

La PGTB recommande à l'utilisateur de réaliser des contrôles (témoins négatifs/positifs, réplicats techniques).

### Résultats

L'utilisateur a la possibilité de faire sur la PGTB un gel d'électrophorèse de contrôle d'amplification après mise en autonomie. Les données générées doivent être sauvegardées par l'utilisateur. L'utilisateur peut directement récupérer les résultats sur clef USB. Les résultats peuvent être déposés sur un serveur soumis à un accès par identifiant et mot de passe réservé à l'utilisateur, ou envoyées par mail à l'utilisateur.



### Confidentialité

Les utilisateurs qui utilisent ces équipements peuvent avoir accès aux données antérieures (base de données commune). Pour que les données soient confidentielles, il est recommandé à l'utilisateur d'anonymiser le nom de son projet, de ces programmes et marqueurs, et de ses échantillons.

# Préparation d'échantillons

## Détecter par qPCR

### Analyses

La PGTB met à disposition des utilisateurs une qPCR LC480 (Roche) avec 1 bloc 96 et 1 bloc 384 pour la réalisation de quantification relative et absolue par SYBRGreen.

### Accès

Les qPCR sont réalisées uniquement par l'utilisateur sur la PGTB après mise en autonomie. Les réactifs et les consommables sont obligatoirement fournis par la PGTB. Les utilisateurs ont la possibilité d'être formés à l'utilisation du robot pour déposer les mix qPCR et les ADN en plaque 384.



### Echantillons

Les échantillons doivent être en plaque 96 ou 384. Les concentrations et volumes d'échantillons sont spécifiques du protocole utilisé. L'utilisateur peut stocker les échantillons sur la PGTB le temps du projet.

### Contrôles

La PGTB recommande à l'utilisateur de réaliser des contrôles (témoins négatifs/positifs, réplicats techniques).

### Résultats

Les données générées doivent être sauvegardées par l'utilisateur. L'utilisateur peut directement récupérer les résultats sur clef USB. Les résultats peuvent être déposés sur un serveur soumis à un accès par identifiant et mot de passe réservé à l'utilisateur, ou envoyées par mail à l'utilisateur.

### Confidentialité

Les utilisateurs qui utilisent ces équipements peuvent avoir accès aux données antérieures (base de données commune). Pour que les données soient confidentielles, il est recommandé à l'utilisateur d'anonymiser le nom de son projet, de ces programmes et marqueurs, et de ses échantillons.



# Préparation d'échantillons

## Détecter par dd-PCR

### Analyse

La PGTB met à disposition des utilisateurs une QX200 Droplet Digital PCR (Bio-Rad).

L'utilisateur a le choix entre 4 applications :

1. Quantification absolue d'ADN rare ou en faible quantité,
2. Détermination de la variation du nombre de copies (CNV),
3. Mesure des niveaux d'expression des gènes,
4. Quantification des bibliothèques pour du séquençage NGS.

### Accès

L'utilisateur peut venir utiliser la QX200 après mise en autonomie. La PGTB peut réaliser certaines prestations sous réserve de disponibilités. La fourniture des réactifs et consommables par la PGTB est obligatoire.

### Echantillons

Les échantillons doivent être en plaque 96 pour l'analyse de plus de 8 échantillons, sinon les échantillons doivent être en tube. Un test préalable peut être recommandé pour déterminer à quelle concentration les échantillons peuvent être analysés. L'utilisateur peut stocker les échantillons sur la PGTB le temps du projet.

### Contrôles

La PGTB recommande à l'utilisateur de réaliser des contrôles (témoins négatifs/positifs). La quantification est validée si au moins 10.000 gouttelettes sont détectées.

### Résultats

L'utilisateur peut directement récupérer les résultats sur clef USB. Les résultats peuvent être déposés sur un serveur soumis à un accès par identifiant et mot de passe réservé à l'utilisateur, ou envoyées par mail à l'utilisateur.

### Confidentialité

Les utilisateurs qui utilisent ces équipements peuvent avoir accès aux données antérieures (base de données commune). Pour que les données soient confidentielles, il est recommandé à l'utilisateur d'anonymiser le nom de son projet, de ces programmes et marqueurs, et de ses échantillons.





# Préparation d'échantillons

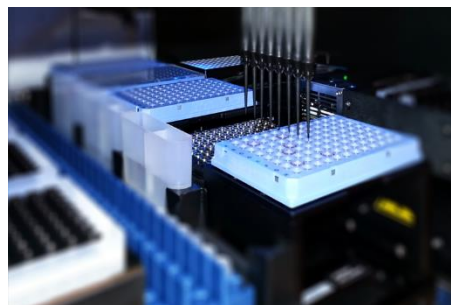
## Robotiser

### Analyse

La PGTB met à disposition de l'utilisateur le robot Chemagicstar (Hamilton).

5 programmes sont disponibles :

1. Diluer des échantillons à partir d'une ou plusieurs plaque(s) source(s) avec un diluant au choix (eau, TE...), vers une ou plusieurs plaque(s) destinataire(s),
2. Réarranger des échantillons de plusieurs plaques sur une ou plusieurs plaque(s) différente(s),
3. Transférer des échantillons en tubes (2 mL Eppendorf ou tubes 500  $\mu$ L à vis) vers une plaque PCR,
4. Compacter 4 plaques sources d'ADN ou de produits PCR en 1 plaque 384,
5. Déposer des ADNc et des mix qPCR pour un run sur LC480.



### Accès

L'utilisateur vient sur la PGTB avec ses échantillons en tube, en plaque 96 ou 384 selon le programme souhaité. L'utilisateur peut utiliser le robot après mise en autonomie. La PGTB peut réaliser ces prestations sous réserve de disponibilités. La fourniture des consommables par la PGTB est obligatoire.

### Echantillons

L'utilisateur doit se renseigner auprès de la PGTB pour connaître le format d'entrée, les volumes d'échantillons et les contraintes spécifiques au programme souhaité. L'utilisateur peut stocker les échantillons sur la PGTB le temps du projet.

Avant toutes premières manipulations, des fichiers Excel de programmation sont à compléter avec les coordonnées et les volumes à pipeter. Ces fichiers vous seront fournis par mail ou sur clef USB.

### Confidentialité

Les utilisateurs qui utilisent cet équipement peuvent avoir accès aux données antérieures (base de données commune). Pour que les données soient confidentielles, il est recommandé à l'utilisateur d'anonymiser le nom de son projet, de ces programmes et marqueurs, et de ses échantillons.

## Séquençage Long Reads

### Analyse

La PGTB propose aux utilisateurs d'analyser leurs échantillons sur GridION (Oxford Nanopore Technologies) pour du séquençage d'ADN de grande taille ou d'amplicons, du metabarcoding 16S ou du séquençage d'ARNm/ADNc.

### Accès

L'utilisateur peut réaliser la préparation des librairies sur la PGTB après mise en autonomie. La PGTB peut réaliser la préparation des librairies sous réserve de disponibilités. Le séquençage est exclusivement réalisé par la PGTB. La fourniture des consommables et des réactifs par la PGTB est obligatoire.

### Echantillons

L'utilisateur doit contacter la PGTB pour connaître les recommandations de qualité et quantité préconisées en fonction du type d'échantillon à analyser sur le GridION. L'utilisateur peut stocker les échantillons sur la PGTB le temps du projet. Les ADN/ARN/amplicons sont contrôlés sur TapeStation 4200 et sur Qubit avant la construction de la librairie. L'utilisateur est contacté dans le cas où un problème serait détecté sur un échantillon.

### Contrôles des librairies

La validation des librairies est faite sur Bioanalyzer 2100 ou TapeStation 4200 et sur Qubit.

### Validation du run

Le run est validé lorsque la quantité de données est supérieure à 2Gb et que la taille moyenne des fragments est conforme à l'attendu (variable en fonction de la fragmentation, de la longueur des amplicons ou du profil des ARNm).



### Résultats

Les résultats sont déposés sur un serveur soumis à un accès par identifiant et mot de passe réservé à l'utilisateur.

### Confidentialité

Pour que les données soient confidentielles, il est recommandé à l'utilisateur d'anonymiser le nom de son projet et de ses échantillons.

# Séquençage et Génotypage

## Séquençage sur PROTON

### Analyse

La prise en charge des échantillons est faite à partir de l'ADN génomique, d'amplicons ou d'ARN pour la préparation des librairies et le séquençage.

Le volume de données générées est de 80 à 100 millions de reads soit 15 à 20 Gigabases maximum. La taille des fragments séquencés est de 100 à 200pb.

### Accès

L'utilisateur peut réaliser la préparation des librairies sur la PGTB après mise en autonomie. La PGTB peut réaliser la préparation des librairies sous réserve de disponibilités. Le séquençage est exclusivement réalisé par la PGTB. La fourniture des consommables et des réactifs par la PGTB est obligatoire.

### Echantillons

La PGTB recommande aux utilisateurs de fournir des échantillons avec un ratio 260/280 = [1.8-2] et une quantité d'au moins 1000ng. L'utilisateur peut stocker les échantillons sur la PGTB le temps du projet. La PGTB pourra demander à l'utilisateur les résultats de dosage des échantillons. Une première validation du matériel est réalisée avant la construction de la librairie. L'utilisateur est contacté dans le cas où un problème serait détecté sur un échantillon.

### Contrôles des librairies

La validation des librairies est faite sur Bioanalyzer 2100, ou sur Qubit, ou par qPCR. Dans le cas des librairies réalisées par l'utilisateur, celui-ci pourra être amené à fournir le rapport de quantification.

### Validation du run

Le run est validé lorsque le nombre de reads est conforme aux spécificités de chaque puce, la longueur des reads est conforme à la taille attendue, et le % Ion Sphere Particles enrichies > 90%

### Résultats

Les résultats sont déposés sur un serveur soumis à un accès par identifiant et mot de passe réservé à l'utilisateur, ou envoyées par mail à l'utilisateur.

### Confidentialité

Pour que les données soient confidentielles, il est recommandé à l'utilisateur d'anonymiser le nom de son projet et de ses échantillons.



# Séquençage et Génotypage

## Séquençage sur MiSeq

### Analyse

La prise en charge des échantillons est faite à partir de l'ADN génomique, d'amplicons ou d'ARN pour la préparation des librairies et le séquençage. Différents formats de séquençage sont disponibles :

Kit	Single reads	Kit Size (cycles)	Output (max.)
Nano Kit v2	1 M	300, 500	500 Mb
Micro Kit v2	4 M	300	1.2 Gb
Kit v2	12-15 M	50, 300, 500	7.5 Gb
Kit v3	22-25 M	150, 600	15 Gb



### Accès

L'utilisateur peut réaliser la préparation des librairies sur la PGTB après mise en autonomie. La PGTB peut réaliser la préparation des librairies sous réserve de disponibilités. Le séquençage est exclusivement réalisé par la PGTB. La fourniture des consommables et des réactifs par la PGTB est obligatoire.

### Echantillons

La PGTB recommande aux utilisateurs de fournir pour les échantillons d'ADN génomique une quantité d'au moins 1000ng avec un ratio 260/280 = [1.8-2]. L'utilisateur peut stocker les échantillons sur la PGTB le temps du projet. La PGTB pourra demander à l'utilisateur les résultats de dosage des échantillons. Une première validation du matériel est réalisée avant la construction de la librairie. L'utilisateur est contacté dans le cas où un problème serait détecté sur un échantillon.

Pour le cas particulier de la métagénomique ciblée, les préconisations sont mentionnées dans le mode opératoire « Métagénomique ciblée sur MiSeq avec le protocole Tailed PCR » envoyé aux utilisateurs. Si, exceptionnellement les premières PCR sont réalisées par la PGTB il sera demandé à l'utilisateur de fournir de 20 à 40 µL d'ADN à au moins 5ng/µL en plaque 96 (volume à définir avec la PGTB selon le nombre de marqueurs à analyser).

### Contrôles des librairies

La validation des librairies est faite sur TapeStation 4200, ou sur Qubit, ou par qPCR. Dans le cas des librairies réalisées par l'utilisateur, celui-ci pourra être amené à fournir le rapport de quantification.

### Validation du run

Le run est validé lorsque le % Q30 est conforme aux spécificités de chaque puce (voir tableau ci-après).

MiSeq Reagent Kit v2	MiSeq Reagent Kit v3
> 90% bases higher than Q30 at 1 × 36 bp	> 85% bases higher than Q30 at 2 × 75 bp
> 90% bases higher than Q30 at 2 × 25 bp	> 70% bases higher than Q30 at 2 × 300 bp
> 80% bases higher than Q30 at 2 × 150 bp	
> 75% bases higher than Q30 at 2 × 250 bp	

### Résultats

Les résultats sont déposés sur un serveur soumis à un accès par identifiant et mot de passe réservé à l'utilisateur, ou envoyées par mail à l'utilisateur.

### Confidentialité

Pour que les données soient confidentielles, il est recommandé à l'utilisateur d'anonymiser le nom de son projet et de ses échantillons.

## Génotypage sur MassARRAY

### Analyse

Génotypage jusqu'à 40 SNP/INDEL par spectrométrie de masse en multiplex sur MassARRAY (Agena). 3 formats d'analyse sont disponibles : 380 échantillons sur 1 multiplex, 190 échantillons sur 2 multiplex, et 95 échantillons sur 4 multiplex.

### Accès

L'utilisateur peut réaliser l'analyse (hors run sur le spectromètre de masse) sur la PGTB après mise en autonomie. La PGTB peut réaliser cette prestation sous réserve de disponibilités. La fourniture des consommables et réactifs (y compris les amorces) par la PGTB est obligatoire.

### Echantillons

L'utilisateur fournit 50 µL d'ADN en plaque 96 avec le puits H12 libre sur chaque plaque. La PGTB recommande aux utilisateurs de fournir des ADN à environ 10 ng/µL pour des résultats optimums. L'utilisateur doit transmettre par mail les plans de plaque d'échantillons au format SBS sous Excel. L'utilisateur peut stocker les échantillons sur la PGTB le temps du projet.

### Contrôles

Le contrôle positif est un échantillon analysé sur 3 SNP validés qui suit le même process que les échantillons à analyser. Il permet de valider l'analyse (en cas d'échec totale sur les échantillons fournis par l'utilisateur).

### Résultats

Les résultats sont déposés sur un serveur soumis à un accès par identifiant et mot de passe réservé à l'utilisateur, ou envoyés par mail à l'utilisateur.

### Confidentialité

Toutes les données générées sur le MassARRAY sont accessibles par les utilisateurs du logiciel d'analyse Typer4 (base de données commune). Si l'utilisateur souhaite que ses données soient confidentielles, il est recommandé à l'utilisateur d'anonymiser le nom de son projet, de ses marqueurs SNP et de ses échantillons.



## Génotypage sur qPCR

### Analyses

La PGTB met à disposition des utilisateurs une qPCR LC480 (Roche) avec 1 bloc 96 et 1 bloc 384.

L'utilisateur a le choix entre 2 analyses :

1. Génotypage SNP par HRM (high-resolution melting), technique basée sur l'analyse de la dénaturation en haute résolution de l'ADN,
2. Génotypage SNP par TaqMan, technique basée sur l'hybridation allèle spécifique.

### Accès

Les qPCR sont réalisées uniquement par l'utilisateur sur la PGTB. Les réactifs et les consommables sont obligatoirement fournis par la PGTB. Les utilisateurs ont la possibilité d'être formés à l'utilisation du robot pour déposer les mix qPCR et les ADN en plaque 384.

### Echantillons

Les échantillons doivent être en plaque 96 ou 384. Les concentrations et volumes d'échantillons sont spécifiques du protocole utilisé. L'utilisateur peut stocker les échantillons sur la PGTB le temps du projet.

### Contrôles

La PGTB recommande à l'utilisateur de réaliser des contrôles (témoins négatifs/positifs, réplicats techniques).

### Résultats

Les données générées doivent être sauvegardées par l'utilisateur. L'utilisateur peut directement récupérer les résultats sur clef USB. Les résultats peuvent être déposés sur un serveur soumis à un accès par identifiant et mot de passe réservé à l'utilisateur, ou envoyées par mail à l'utilisateur.

### Confidentialité

Les utilisateurs qui utilisent ces équipements peuvent avoir accès aux données antérieures (base de données commune). Pour que les données soient confidentielles, il est recommandé à l'utilisateur d'anonymiser le nom de son projet, de ces programmes et marqueurs, et de ses échantillons.



## Utiliser le Fluidigm Access Array System 48.48

### Analyse

PCR en microfluidique (48 échantillons x 48 couples d'amorces) pour la construction rapide d'un grand nombre de librairies NGS en vue de séquençage d'amplicons sur MiSeq. Possibilité de multiplexage (jusqu'à 10 couples d'amorces par puits dans le cadre d'un projet R&D).

Les barcodes uniques sont directement intégrés aux amorces. Le design des amorces et leur commande sont assurés par la PGTB.

### Accès

L'utilisateur peut réaliser la préparation des librairies après information. La PGTB peut réaliser la préparation des librairies sous réserve de disponibilités. Les consommables et réactifs sont obligatoirement fournis par la PGTB.

### Echantillons

La PGTB recommande aux utilisateurs de fournir des échantillons avec un ratio 260/280 = [1.8-2] et une quantité d'au moins 500ng pour des résultats optimums. L'utilisateur peut stocker les échantillons sur la PGTB le temps du projet.

### Contrôles des librairies

La validation des librairies Access Array est faite sur puce DNA High Sensitivity sur Bioanalyzer 2100 ou sur puce HS D1000 sur TapeStation 4200.

### Confidentialité

Pour que les données soient confidentielles, il est recommandé à l'utilisateur d'anonymiser le nom de son projet et de ses échantillons.

## Accès au laboratoire confiné

La PGTB met à disposition des utilisateurs un laboratoire confiné entièrement équipé et dédié à l'étude de l'ADN environnemental et d'échantillons « sensibles ». Ce laboratoire est équipé de salles propres à air filtré, à pression positive et de radiations UV. Ce laboratoire est isolé dans un autre bâtiment afin d'éviter toute contamination par le laboratoire « classique » de la PGTB.

Il est composé d'un pré-sas donnant sur un sas d'entrée et de 3 salles dotées d'un équipement complet en biologie moléculaire pour la préparation des échantillons, l'extraction d'ADN (en plaque ou en tube) et la réalisation des mix PCR.

Chaque salle possède aussi un équipement spécifique à l'activité qui y est réalisée :

- la salle de préparation des échantillons comporte un réfrigérateur et un congélateur -80°C pour le stockage des échantillons, une chambre UV pour éliminer les acides nucléiques pouvant être présents dans les tubes et réactifs, et un broyeur (Retsch Mill) pour le broyage avec billes en inox des échantillons en tubes ou en plaques,
- la salle d'extraction d'ADN comporte une centrifugeuse réfrigérée à tubes et à plaques ainsi qu'une étuve pour incuber les échantillons à la lyse et une hotte filtrante. Les kits validés et pouvant être utilisés dans cette salle sont : Invitex Plant kit, Qiagen DNeasy Plant kit et PowerSoil kit,
- la salle de préparation des PCR, comporte un PSM de type II et un thermocycleur pour les étapes d'incubation uniquement.

### Accès

Toute personne souhaitant utiliser le laboratoire confiné doit faire une demande d'autorisation pour exercer un travail isolé qui sera soumise à la validation du responsable de site ou son adjoint. L'utilisateur aura accès au laboratoire confiné après avoir suivi la visite avec le personnel de la PGTB. Tous les équipements et kits mis à dispositions dans ces salles nécessitent une information. Si vous souhaitez utiliser un de vos protocoles ou kits, celui-ci doit être au préalable validé par la PGTB. Les consommables sont obligatoirement fournis par la PGTB.

### Echantillons

Tout échantillon amené dans le laboratoire confiné devra au préalable être nettoyé selon les spécifications de la PGTB. L'utilisateur peut stocker les échantillons sur la PGTB le temps du projet.

### Contrôles

La PGTB recommande à l'utilisateur de réaliser des contrôles (témoins négatifs/positifs, répliqués techniques).

### Confidentialité

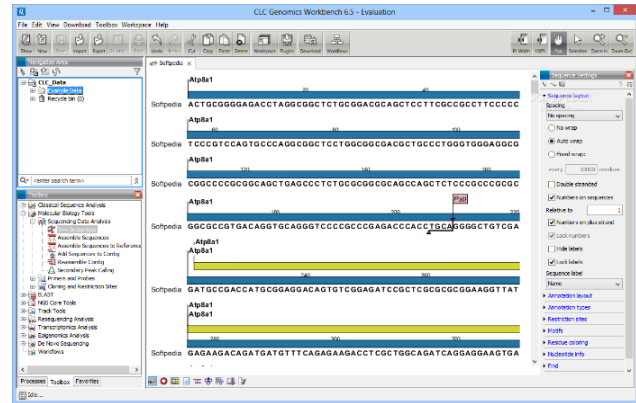
Pour que les données soient confidentielles, il est recommandé à l'utilisateur d'anonymiser le nom de son projet et de ses échantillons.

# Analyser les données

## Logiciels d'analyse des données de séquençage

### CLC-Bio

L'utilisateur peut utiliser cette suite logicielle pour l'analyse des données NGS générées au sein de la PGTB (assemblage, mapping, détection de variants, analyse d'expression, ...). La PGTB pourra si besoin montrer à l'utilisateur l'utilisation de base du logiciel. Les données générées doivent être sauvegardées par l'utilisateur.



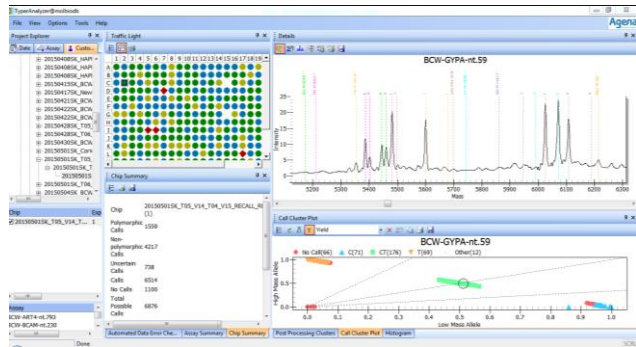
### Confidentialité

Il y a une session unique sur ce logiciel ce qui fait que les utilisateurs ont accès aux autres données. Si l'utilisateur souhaite que ses données soient confidentielles, il est recommandé d'anonymiser le nom de son projet, de ses marqueurs et de ses échantillons.

## Logiciels d'analyse des données de génotypage

### Typer4

L'utilisateur peut utiliser ce logiciel d'analyse des données de génotypage issues du MassARRAY. La PGTB pourra si besoin montrer à l'utilisateur l'utilisation de base du logiciel. Les données générées doivent être sauvegardées par l'utilisateur.



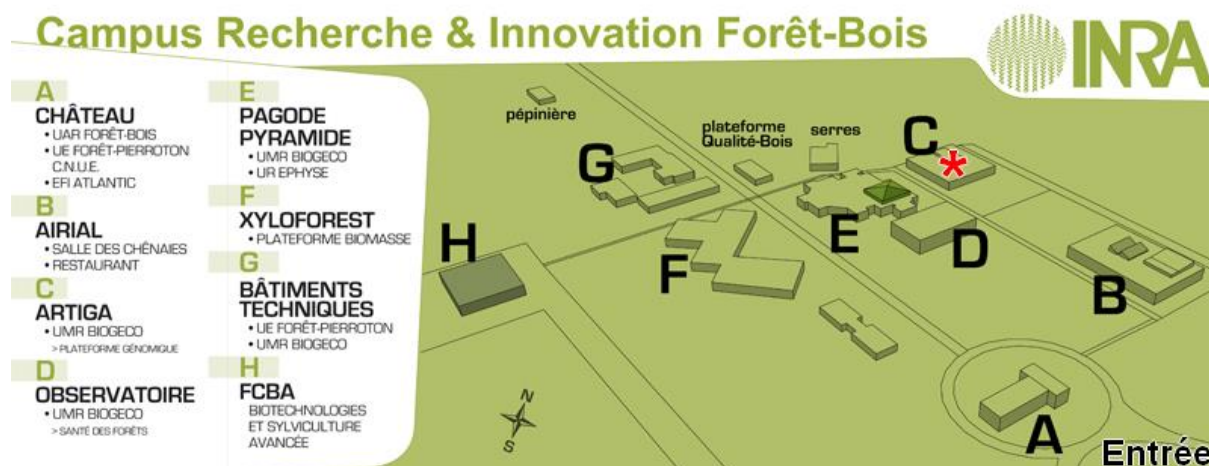
### Confidentialité

Toutes les données générées sur le MassARRAY sont accessibles par les utilisateurs de Typer4 (base de données commune). Si l'utilisateur souhaite que ses données soient confidentielles, il est recommandé d'anonymiser le nom de son projet, de ses marqueurs et de ses échantillons.

# Accès

## A 20 minutes seulement de Bordeaux !

La PGTB est située au 69 route d'Arcachon à Cestas (Pierroton), dans le bâtiment ARTIGA du Campus Forêt-Bois de l'INRA Bordeaux-Aquitaine.



## Coordonnées GPS

44.736264 | -0.773688

## Se rendre à la PGTB

### En voiture depuis Bordeaux : 20 minutes

Prendre l'A63 en direction d'Arcachon, à la sortie 24 prendre la D211 direction Pierroton, au 2ème rond-point prendre à gauche en direction de Marcheprime, et tourner à droite à 1km pour rentrer sur le campus.

### En transport en commun depuis Bordeaux : 45 minutes

A la gare de Bordeaux, prendre le train en direction d'Arcachon jusqu'à la gare de Cestas-Gazinet, et prendre la navette Prox'bus jusqu'au campus Forêt-Bois de l'INRA Bordeaux-Aquitaine.

## Pour plus d'informations...

[www.infotbm.com/le-reseau-tbc/plans-et-cartes](http://www.infotbm.com/le-reseau-tbc/plans-et-cartes)

<https://www.gares-sncf.com/fr/gare/frboj/bordeaux-saint-jean>

<http://www.proxibus.fr/plan-horaires/>

# Contacts

**Demande d'analyse**

[pgtb@inra.fr](mailto:pgtb@inra.fr)

**Envoi des échantillons**

PGTB - UMR BIOGECO  
INRA - Site de Pierroton - Bâtiment ARTIGA  
69 route d'Arcachon  
33612 CESTAS  
FRANCE

**Responsable scientifique**

Christophe PLOMION  
[christophe.plomion@inra.fr](mailto:christophe.plomion@inra.fr)  
05 35 38 53 26

**Directeur technique**

Franck SALIN  
[franck.salin@inra.fr](mailto:franck.salin@inra.fr)  
05 35 38 53 38

**Responsable Management Qualité**

Adline DELCAMP  
[adline.delcamp@inra.fr](mailto:adline.delcamp@inra.fr)  
05 35 38 53 23

**Gestionnaire administrative INRA**

Florence LE PIERRES  
[florence.le-pierres@inra.fr](mailto:florence.le-pierres@inra.fr)  
05 35 38 53 69

**Gestionnaire administrative UB**

Ingrid ROCHEL  
[ingrid.rochel@u-bordeaux.fr](mailto:ingrid.rochel@u-bordeaux.fr)  
05 57 57 16 83