



## Mot de la direction

L'équipe de la PGTB vous souhaite une excellente année 2021, pleine de projets et de belles découvertes scientifiques !

La période difficile que nous sommes en train de traverser est l'occasion de réfléchir avec un œil neuf à ce qui compte vraiment dans nos activités professionnelles : notre passion pour nos objets de recherche et l'importance des relations humaines au sein de nos collectifs et lors des collaborations...

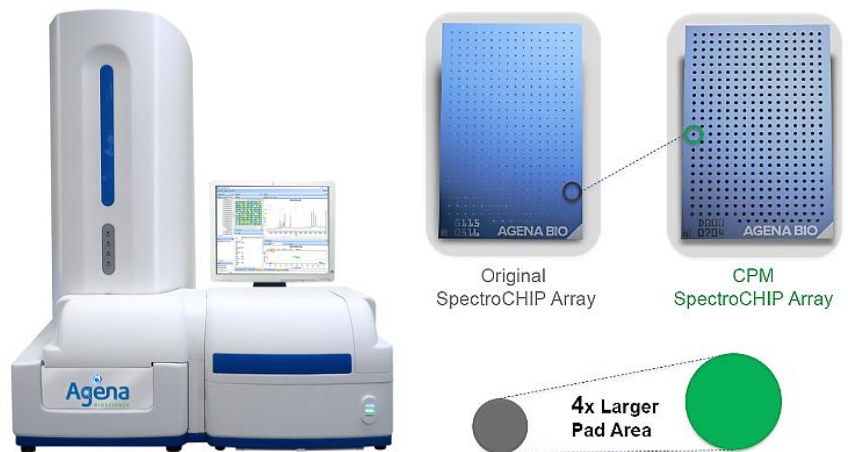
Plus que jamais, nous serons heureux de vous accompagner dans vos projets de recherche que ce soit pour produire des données, développer des méthodes innovantes ou débattre sur la meilleure façon d'obtenir des données adaptées à vos questions scientifiques.

L'année 2021 sera marquée par l'arrivée d'un nouveau séquenceur haut-débit court fragment afin de pouvoir proposer de nouvelles prestations de séquençage de génomes et de transcriptomes, ou du séquençage ciblé à plus haut débit. Cet appareil complètera idéalement nos capacités de séquençage long fragment Oxford Nanopore dont l'amélioration constante des réactifs et des algorithmes d'interprétation du signal n'en finissent pas d'augmenter la qualité et le débit de séquençage, à coût équivalent.

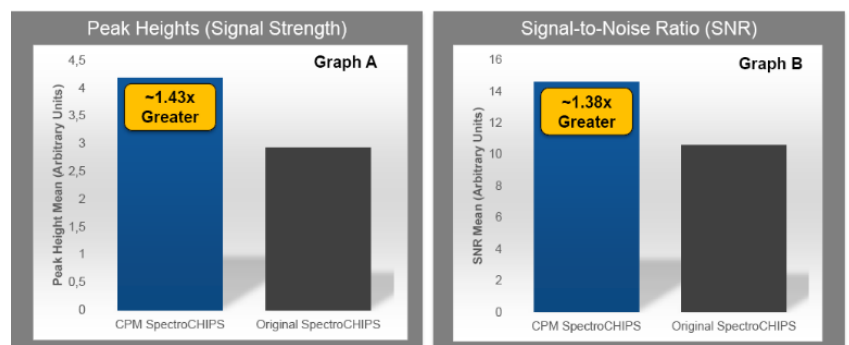
Il ne vous reste donc plus qu'à imaginer votre plus beau projet !

## Nouveau système de génotypage MassARRAY

L'été dernier, la PGTB a mis en service son nouvel appareil de génotypage SNP/INDEL : le MassARRAY System CPM384 d'Agena Bioscience, financé par la CNOC, le GIS IBISA, la Région Nouvelle Aquitaine et la PGTB.



Ce nouveau système offre des performances supérieures grâce à une nouvelle génération de puces avec des spots plus grands, offrant ainsi un meilleur signal et réduisant le bruit de fond. Plusieurs configurations sont possibles sur une puce : 380 échantillons sur 10 à 40 SNP/INDEL, 190 échantillons sur 40 à 80 SNP/INDEL, 95 échantillons 80 à 160 SNP/INDEL. Grâce à ce nouvel appareil, plus automatisé, et à nos récentes optimisations robotiques pour la préparation des échantillons, le coût de cette prestation a diminué de près de 15% par rapport à l'année dernière.



Le système actuel, disponible à la PGTB depuis 2012, sera conservé mais converti au format 96 échantillons. Il servira ponctuellement aux petits projets de génotypage SNP/INDEL mais sera principalement dédié à deux nouvelles applications : le génotypage ciblé de sites méthylés ([technologie EpiTYPER](#)) et la détection de mutations somatiques ([technologie UltraSEEK](#) qui a un seuil de détection <1%). Si ces technologies vous intéressent, contactez-nous à [pgtb@inrae.fr](mailto:pgtb@inrae.fr) !

## Analyses génétiques *in situ*

Dans le cadre du projet AGIS (LabEx COTE | 2019-2021), la PGTB développe et optimise des méthodes d'analyses génétiques pouvant être déployées directement sur le terrain. L'objectif est de pouvoir fournir des solutions intégrées, efficaces et rapides qui soient utilisables par les acteurs socio-économiques.

Fin 2020, nous avons par exemple commencé les premiers tests d'extraction sur l'esturgeon d'Europe. A partir d'échantillons d'eau filtrée et directement sur le terrain, nous pourrions à terme détecter la présence de cette espèce, grâce à des protocoles rapides d'extraction d'ADN sur [système portable PDQEx](#) et d'amplification sur [qPCR portable Biomeme Franklin](#), ces deux appareils ayant été récemment mis en service à la PGTB. Ce projet sur l'esturgeon n'est qu'une des composantes du projet AGIS qui s'intéresse également à d'autres problématiques : détection de champignons phytopathogènes, détermination des espèces et des hybrides chez les aloses, description des communautés bactériennes et fongiques associées à la phyllosphère d'arbres, ... Nous ne manquerons pas de vous présenter nos avancées et résultats sur ce projet dans nos prochaines newsletters.

## Comparaison de technologies de métagénomique ciblée de bactéries

La métagénomique ciblée est une approche permettant d'établir un inventaire des organismes présents dans un environnement complexe. Lorsque l'on s'intéresse à l'étude des bactéries, l'analyse consiste communément à séquencer une région variable de l'ADNr 16S (la région V3-V4 par exemple) avec la technologie Illumina. En général, cette analyse fonctionne bien pour caractériser les bactéries jusqu'au niveau du genre mais perd en sensibilité si on souhaite avoir l'information de l'espèce. L'un des facteurs expliquant principalement cette limite est la courte taille des régions séquencées, ne permettant pas de discriminer les bactéries au niveau de l'espèce.

Pour pallier ce problème, de nouveaux kits de préparation de bibliothèques 16S ont été développés. Le premier kit - LoopSeq 16S kit (LOOP Genomics) - consiste à coupler la technologie Illumina avec des identifiants moléculaires uniques pour reconstruire l'intégralité de l'ADNr 16S. Le second kit - SWIFT Amplicon 16S (SWIFT Biosciences) - consiste à séquencer les différentes régions variables du 16S avec la technologie Illumina (Figure 1).

Nous avons voulu comparer ici les trois méthodes que sont l'analyse classique de la région V3-V4 du 16S, le LoopSeq 16S et le SWIFT Amplicon 16S. Pour cela, nous avons utilisé deux communautés artificielles (Mock). L'une est commerciale et est composée de 8 espèces bactériennes (ZymoBIOMICS Microbial Community DNA Standard ; Zymo Research), l'autre a été réalisée en interne et est composée de 14 espèces différentes.

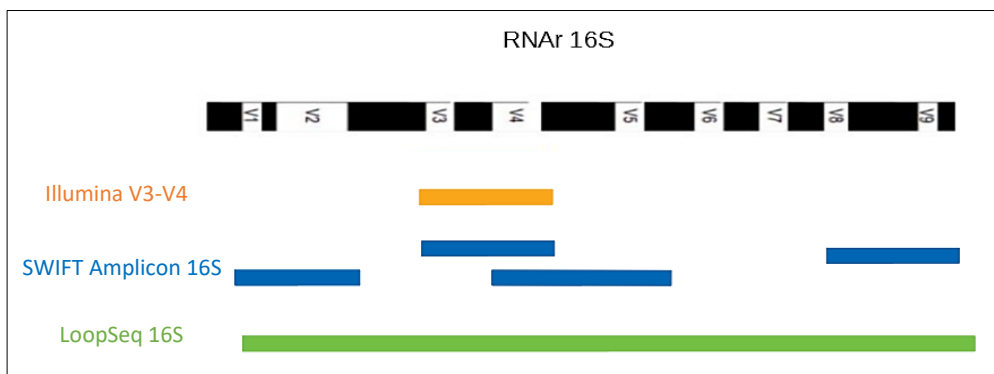


Figure 1

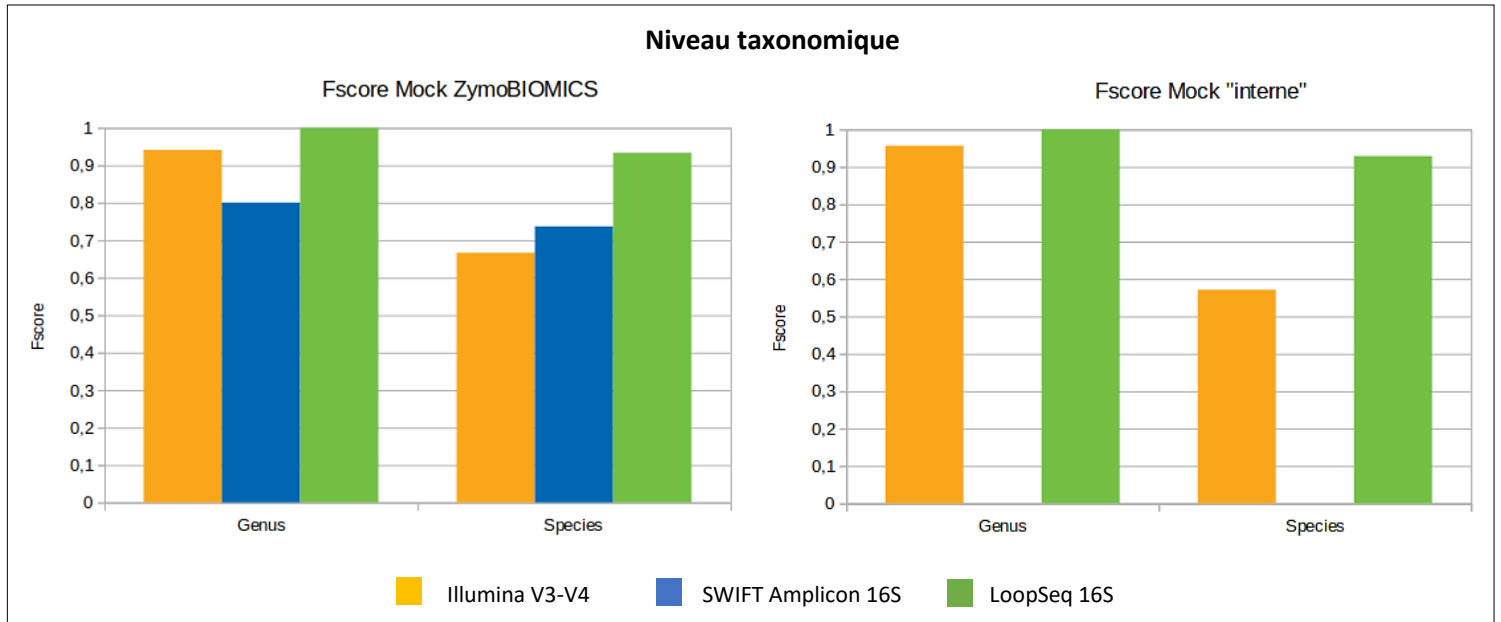
Un jeu de données pour les deux mocks a été obtenu avec la méthode V3-V4 et la méthode LoopSeq, et un seul jeu de données concernant la mock commerciale ZymoBIOMICS a été obtenu avec la méthode SWIFT. Pour chaque méthode, un pipeline d'analyse spécifique a été utilisé et optimisé.

Nous avons comparé au niveau du genre et de l'espèce les résultats obtenus avec leur statut attendu en considérant comme Vrai Positif (VP) les espèces présentes dans l'échantillon et retrouvées dans les résultats, Faux Négatif (FN) les espèces présentes dans l'échantillon mais non retrouvées dans les résultats et Faux Positif (FP) les espèces retrouvées dans les résultats mais qui n'étaient pas attendues. A partir de ces résultats, un score de performance Fscore (Figure 2) a été calculé par méthode et par mock analysée.

$$\begin{aligned} \text{Rappel} &= \frac{VP}{VP + FN} \\ \text{Précision} &= \frac{VP}{VP + FP} \\ \text{Fscore} &= \frac{(\text{précision} * \text{sensibilité})}{(\text{précision} + \text{sensibilité})} \times 2 \end{aligned}$$

Figure 2

La figure 3, ci-après, représente le score de performance (Fscore) pour chaque jeu de données au niveau du genre et de l'espèce.



**Figure 3**

Au niveau du genre, la méthode LoopSeq surpasse les méthodes V3-V4 et SWIFT ; ceci s'explique pour la Mock ZymoBIOMICS par le fait que chaque méthode a retrouvé tous les genres mais que les méthodes V3-V4 et SWIFT donnent des genres faux positifs (1 et 4 respectivement). Pour la Mock « interne », le Fscore de LoopSeq est meilleur car la méthode V3-V4 ne retrouve pas un des genres attendus.

Au niveau de l'espèce, LoopSeq surpasse également les 2 autres méthodes. En effet, seulement 1 faux négatif pour la Mock ZymoBIOMICS et la Mock « interne » a été détecté avec la méthode LoopSeq contre 3 et 8 respectivement avec la méthode V3-V4. De plus, aucun faux positif n'a été détecté avec LoopSeq contre 4 avec la méthode SWIFT.

De par ces résultats, la PGTB met à disposition et recommande aux utilisateurs de s'orienter vers la méthode classique V3-V4 pour l'étude des communautés bactériennes lorsque l'on souhaite aller jusqu'au genre uniquement. Dans le cas où l'utilisateur souhaite obtenir l'information jusqu'à l'espèce, la PGTB recommande la méthode LoopSeq 16S.

Le coût de cette dernière méthode est six fois supérieur à la méthode classique V3V4 (14 €/échantillon pour la méthode V3V4 contre 90 €/échantillon pour LoopSeq 16S, hors coût du séquençage). Les analyses bio-informatiques primaires réalisées avec un pipeline dédié à la technologie employée (jusqu'à la table d'OTU et de taxonomie) peuvent être également fournies par la PGTB. Pour plus d'informations, nous vous invitons à nous contacter via l'adresse mail [pgtb@inrae.fr](mailto:pgtb@inrae.fr).



[pgtb.cgfb.u-bordeaux.fr](mailto:pgtb.cgfb.u-bordeaux.fr)



@PGT\_Bordeaux