

FICHE PRODUIT : SEQUENÇAGE

La plateforme propose une prestation de séquençage de librairies préparées par les utilisateurs.

1 Services proposés

1. La vérification des librairies préparées par l'utilisateur :
 - Quantification et vérification de la qualité des librairies par électrophorèse capillaire (Bioanalyzer d'Agilent ou Fragment Analyzer d'AATI).
2. Le séquençage avec le séquenceur HiSeq 4000 d'Illumina :
 - Chargement des librairies sur la flow cell et génération des clusters avec la Cbot (Illumina).
 - Séquençage simple ou pairé avec des tailles de lecture de 50 ou 100 pb selon les options choisies par le porteur de projet. Nous pouvons réaliser d'autres longueurs de lecture, mais uniquement pour des flow cells complètes (8 pistes).
 - Nous ne séquençons les librairies fournies par les utilisateurs que sur des pistes entières (c.-à-d. nous ne multiplexons pas sur la même piste des librairies préparées par un utilisateur avec des librairies préparées par notre plateforme ou par un autre utilisateur). Nous ne commençons un run de séquençage que lorsque la flow cell (8 pistes) est complète avec des échantillons dont la longueur de lecture est similaire.
3. L'analyse primaire des données
 - Démultiplexage et création des fichiers FASTQ.
 - Suppression des dimères d'adaptateur.
 - Contrôle de la qualité du séquençage.
 - Détection d'éventuelles contaminations.
 - Création d'un rapport synthétisant les méthodes utilisées pour l'analyse primaire et les résultats obtenus (un rapport détaillé pour chaque échantillon et un rapport global plus synthétique pour chaque projet).
4. L'analyse ultérieure des données (optionnelle)

2 Contrôles qualité réalisés par la plateforme

Les librairies sont contrôlées selon des critères qualité inhérents à la technologie de séquençage (voir tableau ci-dessous). Après validation des librairies, la plateforme s'engage à utiliser la technologie de séquençage Illumina selon les recommandations du fournisseur. La plateforme déclinera toute responsabilité sur la qualité des résultats.

Vérification des librairies	
Profil de la librairie (électrophorèse capillaire)	Taille moyenne comprise entre 200 et 600 pb.
Pureté de la librairie (électrophorèse capillaire)	Présence minoritaire de dimères d'adaptateur (bande à 120-130 pb), si applicable.

Les contrôles qualité listés ci-dessus sont effectués par la plateforme. Les résultats sont envoyés par e-mail au porteur de projet. Les contrôles qualité sont également accessibles sur le LIMS de la plateforme (<http://ngs-lims.igbmc.fr>).

3 Livraison des résultats

Pour chaque échantillon, les résultats suivants sont mis à la disposition du porteur du projet :

- Les données brutes de séquençage (séquences nucléotidiques au format FASTQ ayant passé le filtre qualité et ne correspondant pas à des dimères d'adaptateur).
- Un rapport présentant les contrôles qualité de séquençage (fichier PDF).

Deux fichiers additionnels sont fournis par projet :

- Un rapport (fichier PDF) présentant le nombre de lectures brutes, le pourcentage de bases ayant un score de qualité Phred supérieur à 30 et la taille de tous les fichiers bruts (FASTQ) à télécharger.
- Un fichier texte fournissant les chaînes de caractères MD5 associées à chaque fichier FASTQ à télécharger. Le porteur de projet peut utiliser ces informations pour vérifier l'intégrité des fichiers après leur téléchargement.

Un e-mail de livraison des données informe le porteur de projet qu'il peut télécharger ses données de séquence en utilisant un login et un mot de passe sur le serveur FTP de la plateforme.

Conformément aux « Conditions Générales de la Plateforme GenomEast », il est rappelé que le porteur du projet est responsable de la sauvegarde et de l'archivage de ses données. La plateforme ne s'engage à les conserver que pour une durée limitée de six mois après leur mise à disposition.

4 Analyse ultérieure (optionnelle)

L'analyse ultérieure des données n'est pas prise en charge dans la prestation standard, mais elle peut être réalisée sous la forme d'une collaboration avec des membres de la plateforme. Le type d'analyses réalisées dépend de la nature des bibliothèques séquencées. Nous recommandons aux porteurs de projet qui souhaiteraient initier une collaboration avec la plateforme de nous contacter avant de commencer leur projet pour que nous puissions les aider à définir les analyses qui pourraient répondre au mieux aux questions biologiques posées.