

La plateforme « Transcriptomique et Génomique Marseille-Luminy » est intégrée au laboratoire TAGC, unité mixte de recherche Inserm/AMU et est une composante de l'infrastructure distribuée France Génomique.

Accessible aux équipes de recherche publique françaises et étrangères, ainsi qu'aux industriels, elle donne accès à une large palette d'outils expérimentaux et bio-informatiques pour l'étude du transcriptome et de la génomique fonctionnelle. L'accès à ces services se fait soit en prestation de service soit en collaboration sur la base d'une tarification adaptée et validée par l'Inserm. Les ingénieurs de la plateforme assurent le traitement et l'analyse de puces à ADN, la construction de bibliothèques, le séquençage et les analyses de données (primaires et secondaires).

Avec l'acquisition du Chromium Controller de la société 10X Genomics, la plateforme propose désormais le séquençage de cellules uniques ainsi que de génome (ou exome) en longs reads synthétiques. Des projets ont déjà été réalisés en prestation et/ou collaboration.



L'ensemble de l'activité de la plateforme est certifiée ISO 9001:2015 et NFX 50-900:2016. Le système de management de la qualité concerne: Expertise, Recherche et Développement en génomique et bio-informatique dans les sciences du vivant.

## Prestations proposées

### ● Séquençage

- **ChIP-seq** : Quantité : 0.05-50 ng d'ADN
- **RNA-seq** :
  - \* *Sélection Poly(A)* : Quantité : 0.5 - 4 µg d'ARN total  
Volume : < 40 µL  
Pureté (DO260/280) : 1.8 - 2.2 / RIN  $\geq$  8
  - \* *Ribo-déplétion* : Quantité : 1 - 5 µg d'ARN total  
Volume : < 20 µL  
Pureté (DO260/280) : 1.8 - 2.2 / RIN  $\geq$  8
- **miRNA-seq** : Quantité : 0.5 - 2 µg d'ARN total  
Pureté (DO260/280) : 1.8 - 2.2 / RIN  $\geq$  8
- **Séquençage avec préparation des bibliothèques avec le Chromium Controller** :
  - \* *Single cell* : Quantité : dépendante du projet  
Qualité : viabilité 90%, cellules dissociées
  - \* *Linked read* : Quantité : 20 ng/µL  
Volume : 30µL  
Qualité :  $\geq$  50 kb

### ● Puces à ADN

- **ARN total** : Quantité : 50 - 200 ng d'ARN total  
Volume : < 20 µL  
Pureté (DO260/280) : 1.8 - 2.2 / RIN  $\geq$  8
- **ARN Poly(A)** : Quantité : 5 ng d'ARN poly(A)  
Volume : < 20 µL  
Pureté (DO260/280) : 1.8 - 2.2 / RIN  $\geq$  8
- **Petit ARN** : Quantité : 500 ng d'ARN total  
Concentration : 100 ng/µL  
Pureté (DO260/280) : 1.8 - 2.2 / RIN  $\geq$  8

### ● Contrôles qualité

- **ADN** : Qubit et Fragment Analyzer
- **ARN** : Nanodrop et Fragment Analyzer

### ● Collaboration

Projet de Recherche et Développement

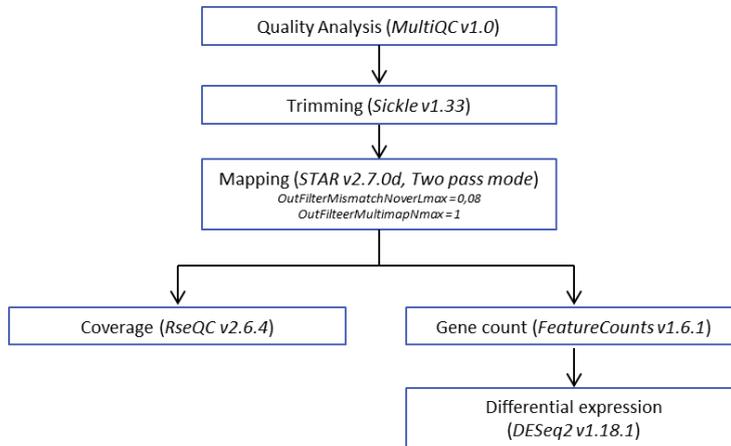
### ● Développements en cours

Cell hashing, CRISPR single-cell

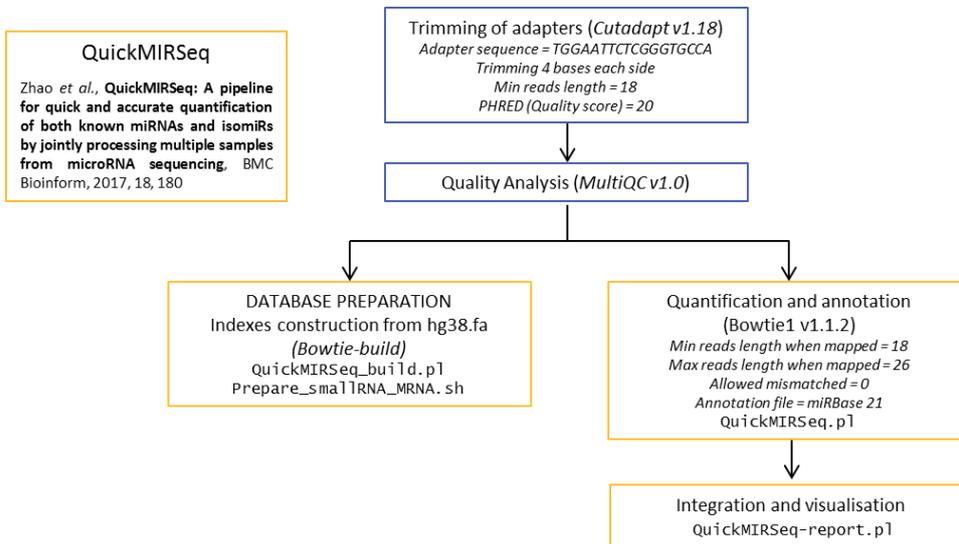
**Si vous n'avez pas les quantités requises, n'hésitez pas à nous contacter.**

# Analyses bioinformatiques

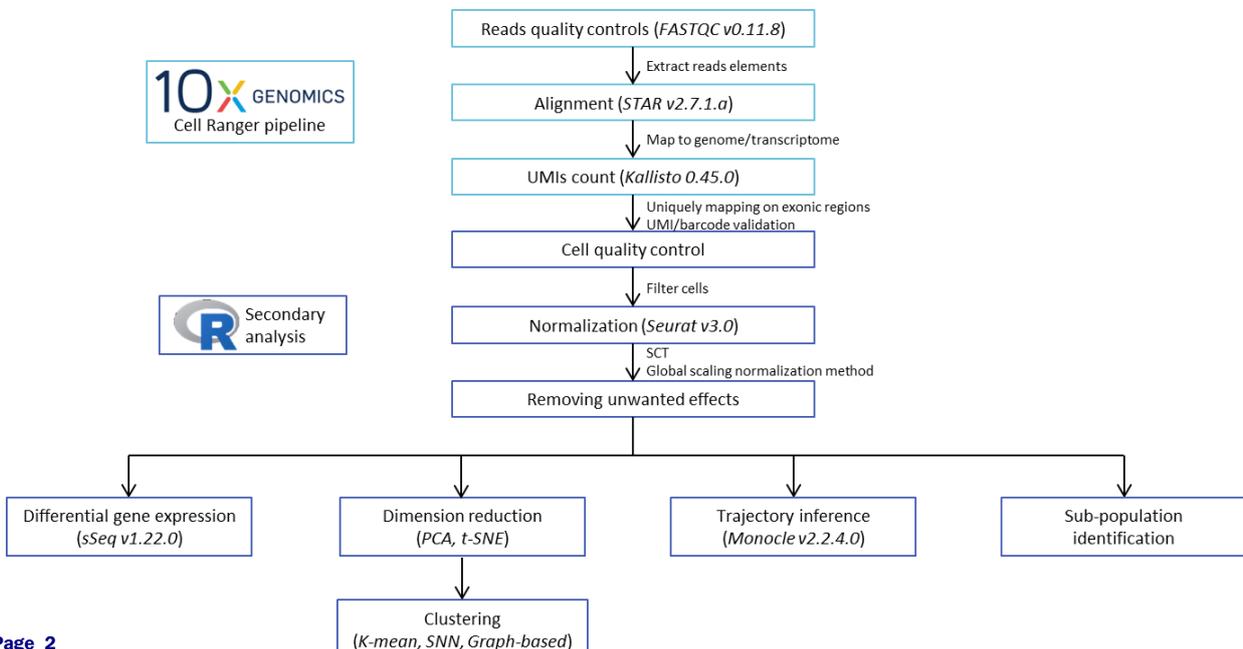
## RNA-seq:



## miRNA-seq:



## scRNA-seq:



# Transfert technologique et formation

**Denis Puthier, Maître de conférence à Aix Marseille Université**

« L'actualité nous rappelle sans cesse la révolution qui s'opère dans le domaine de la génomique. Les évolutions technologiques récentes nous ont projeté en quelques années (moins de 10 ans) dans une nouvelle ère, celle du génome à 1000 et sans doute bientôt 100\$. C'est sans conteste un pas important pour notre société, un pas vers une nouvelle médecine, qu'on espère "personnalisée" c'est à dire façonnée au regard de nos particularités génétiques. Bien sur, les géants de l'industrie s'intéressent aujourd'hui aux méthodes de séquençage des génomes et à leur retombées économiques futures.

Dans un contexte technologique très évolutif, il est important de proposer une offre pédagogique innovante s'appuyant sur des technologies récentes afin de préparer, au mieux, nos étudiants pour leur entrée sur le marché de l'emploi. L'offre pédagogique autour de l'enseignement des technologies de biologie moléculaire appliquées à la génomique a, de tous temps, été délicate à mettre en place. En effet, de tels enseignements nécessitent des consommables qui se révèlent relativement coûteux mais aussi l'implication des différents acteurs de la recherche pour proposer des ateliers aux étudiants. Dans ce cadre, le TGML a été, depuis sa création, un acteur majeur de l'offre pédagogique dans le domaine de la génomique appuyé par l'équipe pédagogique du master BBSG et par les institutions et opérateurs de coordination (notamment l'Inserm, l'AMU, CoreBio PACA et France génomique). Depuis l'année universitaire 2014-2015 des travaux pratiques de séquençage destinés aux étudiants ont été mis en place. Ceux-ci portent sur l'analyse de données liées à des projets de recherche des équipes partenaires et permettent aux étudiants de se plonger dans une problématique de recherche réaliste et de répondre à des questions portant sur l'épigénétique (analyse de données ChIP-seq) ou la transcription (analyse de données RNA-seq). Ces enseignements sont une manière pour l'étudiant de consolider les connaissances vues en cours, de les compléter, et de mettre à profit les différents outils de bioinformatique et d'analyses statistiques présentés dans des modules de master 1 (e.g Bioinformatic Analysis of OMICS Data, BAOD ; Statistical Analysis of OMICS Data, SAOD). Ces ateliers sont aussi à considérer, pour certains étudiants, comme un première prise de contact avec le monde de la recherche dans un contexte contrôlé, sous la houlette d'une équipe rodée à ces méthodes et au travail en laboratoire.

A noter que le travail réalisé dans ce cadre peut dans certains cas amener à des productions scientifiques. Dans ce sens, l'un des échantillons séquencés par la promotion Polytech (Génie Biologique 4A, promotion 2015) a récemment été utilisé dans le cadre d'une publication du groupe de S. Spicuglia, les étudiants étant remerciés dans la rubrique *ad hoc*. L'une des perspectives de ce travail pédagogique est la mise en place d'un atelier autour du scRNA-seq qui devrait voir le jour dans les semestres à venir. »

Saadi W, Kermezli Y, Dao LTM, Mathieu E, Santiago-Algarra D, Manosalva I, Torres M, Belhocine M, Pradel L, Lorioid B, Aribi M, Puthier D, Spicuglia S. **A critical regulator of Bcl2 revealed by systematic transcript discovery of lncRNAs associated with T-cell differentiation.** *Sci Rep.* 2019 Mar 18;9(1):4707.

## Retours clients

- **Saadi KHOCHBIN, Institut pour l'Avancée des Biosciences, La Tronche**

« La différenciation des cellules germinales mâles haploïdes constitue une étape essentielle dans la préparation d'un génome résistant et transportable. Malgré son importance vitale dans le cycle de vie de nombreuses espèces, ce processus est resté l'un des phénomènes biologiques essentiels les plus obscurs. Grâce à la participation du TGML nous sommes aujourd'hui en mesure de proposer les premiers mécanismes moléculaires dirigeant ce processus. Cinq articles issus d'une collaboration étroite avec le TGML résumant l'ensemble de ces données (voir la liste ci-dessous). D'autres collaborations avec le TGML sont en cours de réalisation. Nous sommes donc très satisfaits de cette collaboration. En effet, ce volume de travail n'aurait pas pu être réalisé sans la réactivité, la compétence et la performance du personnel de la plateforme impliqué dans ce travail. »

Shiota H, Barral S, Buchou T, Tan M, Couté Y, Charbonnier G, Reynoird N, Boussouar F, Gérard M, Zhu M, Bargier L, Puthier D, Chuffart F, Bourova-Flin E, Picard S, Filippakopoulos P, Goudarzi A, Ibrahim Z, Panne D, Rousseaux S, Zhao Y, Khochbin S. **Nut Directs p300-Dependent, Genome-Wide H4 Hyperacetylation in Male Germ Cells.** *Cell Rep.* 2018 Sep 25;24(13):3477-3487.e6. doi: 10.1016/j.celrep.2018.08.069.

Barral S, Morozumi Y, Tanaka H, Montellier E, Govin J, de Dieuleveult M, Charbonnier G, Couté Y, Puthier D, Buchou T, Boussouar F, Urahama T, Fenaille F, Curtet S, Héry P, Fernandez-Nunez N, Shiota H, Gérard M, Rousseaux S, Kurumizaka H, Khochbin S. **Histone Variant H2A.L.2 Guides Transition Protein- Dependent Protamine Assembly in Male Germ Cells.** *Mol Cell.* 2017 Apr 6;66(1):89-101.e8. doi: 10.1016/j.molcel.2017.02.025. Epub 2017 Mar 30.

Et 3 autres articles issus des travaux collaboratifs avec la plateforme.

- **El Cherif IBRAHIM, Institut de Neurosciences de la Timone, Marseille**

« Nous avons réalisé l'analyse de 96 échantillons de souris sur des puces SurePrint G3 Mouse Gene Expression 8x60K Microarray v1 d'Agilent Technologies. Il s'agissait de définir les signatures transcriptionnelles en réponse à un stress chronique modéré imprédictible et à l'addition d'un antidépresseur, la fluoxétine, dans 3 tissus: le sang total, le cortex cingulaire antérieur et le gyrus dentelé de l'hippocampe. Après un plan d'expérience établi par le responsable scientifique du projet et les membres de la plateforme TGML, nous avons convenu d'un travail interactif, où une étudiante en thèse a participé et a assisté un ingénieur de la plateforme sur toutes les étapes "biologiques" depuis le contrôle qualité des ARN jusqu'au scan des puces à ADN. Par la suite, une bioinformaticienne du laboratoire avec laquelle nous avons régulièrement interagi nous a permis de traiter par différentes méthodes les données de transcriptome et d'obtenir des résultats originaux que nous avons validés par RT-qPCR. L'avantage essentiel pour nous du travail avec le TGML aura été les possibilités d'échanges constants et la grande flexibilité au cours de tout le processus de traitement des échantillons et des données permettant une parfaite compréhension de ce qui était réalisable et de s'approcher au plus près des objectifs à atteindre. »

Hervé M, Bergon A, Le Guisquet AM, Leman S, Consoloni JL, Fernandez-Nunez N, Lefebvre MN, El-Hage W, Belzeaux R, Belzung C, Ibrahim EC. **Translational Identification of Transcriptional Signatures of Major Depression and Antidepressant Response.** *Front Mol Neurosci.* 2017 Aug 8;10:248. doi: 10.3389/fnmol.2017.00248.

• **François FERON, Institut de NeuroPhysiopathologie, Marseille**

« Afin de découvrir les anomalies qui, au cours du développement, ont conduit à l'apparition de l'autisme chez le jeune enfant, nous avons utilisé des cellules souches présentes dans le corps adulte. Selon notre hypothèse initiale, ces cellules indifférenciées sont un bon miroir des défauts initiaux qui conduisent à un mal-développement cérébral. Après avoir purifié les cellules souches nasales de 11 patients autistes et de 11 individus contrôles, nous avons extrait leur ARN qui, grâce à la plateforme TGML, a ensuite été hybridé sur des microarrays d'ADN pangénomique. Cela nous a permis de mettre en évidence une sous-expression d'une enzyme associée au molybdène – MOCOS – chez presque tous les patients. Il s'agit d'une découverte majeure car, généralement, les défauts génétiques observés ne concernent que 1% à 3% des patients. Cette molécule est indispensable au bon fonctionnement de deux autres enzymes (AOX1 et XDH) qui jouent un rôle essentiel dans le métabolisme des purines. La dérégulation de l'expression de MOCOS conduit également à une diminution des synapses neuronales. Par la suite, une analyse de ces mêmes cellules a été réalisée par la technique de RNA-seq et des résultats similaires ont été observés. Nous ne pouvons que nous féliciter du travail réalisé par la plateforme. Les expériences ont été réalisées selon le calendrier prévu, les résultats ont pu être exploités sans délai et les relations avec les différentes personnes du TAGC ont été excellentes. »

Féron F, Gepner B, Lacassagne E, Stephan D, Mesnage B, Blanchard MP, Boulanger N, Tardif C, Devèze A, Rousseau S, Suzuki K, Izpisua Belmonte JC, Khrestchatsky M, Nivet E, Erard-Garcia M. **Olfactory stem cells reveal MOCOS as a new player in autism spectrum disorders.** Mol Psychiatry. 2016 Sep;21(9):1215-24. doi: 10.1038/mp.2015.106.

• **Salvatore SPICUGLIA, Theories and Approaches of Genomic Complexity, Marseille**

« Nos travaux ont mis en évidence que certains promoteurs pouvaient avoir une double casquette: ils peuvent agir en tant que promoteur et induire l'expression du gène voisin, mais aussi fonctionner en tant qu'enhancer en activant l'expression des gènes distaux. Pour arriver à cette conclusion, l'équipe a développé une approche originale permettant de tester, de façon systématique, l'activité enhancer de tous les promoteurs du génome humain. Ils ont ensuite validé leurs découvertes par une approche de manipulation génique appelée CRISPR/Cas9. Cette découverte est importante car elle montre que, dans le cas de pathologies, les causes du dérèglement d'un gène sont parfois à rechercher dans la région promotrice d'un gène distal. Nous avons travaillé en collaboration avec la plateforme TGML afin de développer une nouvelle approche d'essai rapporteur à grande échelle. Grâce à l'expertise des ingénieurs de la plateforme et à leur grande réactivité nous avons été en mesure de faire de nouvelles découvertes de façon très compétitive ! »

Lan T.M. Dao, Ariel Galindo-Albarrán, Jaime A Castro-Mondragon, Charlotte Andrieu-Soler, Alejandra Medina-Rivera, Charbel Souaid, Guillaume Charbonnier, Aurélien Griffon, Laurent Vanhille, Tharshana Stephen, Jaafar Alomairi, David Martin, Magali Torres, Nicolas Fernandez, Eric Soler, Jacques van Helden, Denis Puthier, Salvatore Spicuglia. **Genome-wide characterization of mammalian promoters with distal enhancer functions.** Nature Genetics. 2017 Jul;49(7):1073-1081. doi:10.1038/ng.3884

## Equipements de la plateforme



NextSeq 500  
(Illumina)



Scanner Microarray  
(Agilent)



Chromium Controller  
(10x Genomics)



EVO 150  
(Tecan)



Appolo-324  
(WaferGen)



Fragment Analyzer  
(Advanced Analytical)

## Contact

**Adresse:** Parc Scientifique de Luminy, Bâtiment TPR2, case 928  
163 Avenue de Luminy  
13288 MARSEILLE cedex 09  
**Téléphone :** 04.91.82.87.13 / 06.17.25.70.34  
**Messagerie :** tgml.tagc@inserm.fr



**Direction TAGC:** Pascal Rihet

**Représentant de la direction sur la plateforme:** Christophe Chevillard

**Responsable plateforme:** Béatrice Loriod

**Personnels:** Hortense Vachon, Myriam Ramadour, Lisa Bargier, Eve-Lyne Mathieu, Alexandre Sarrabay, Laurent Hannouche

### Retrouvez-nous sur le web !

<https://tagc.univ-amu.fr/en/resources/transcriptomic-genomic-platform-marseille-luminy>



@TGML\_TAGC

