



De nouveaux services grâce au «Next Generation Sequencing»

Par Dr. Steffen Krüger, AGOWA genomics, Berlin - Tél./Fax : +49-(0)30-5304-2200 / -2201

Email : service@agowa.de, Web : www.lgc.co.uk/genomics

Grâce au «Next Generation Sequencing» (NGS), de toutes nouvelles perspectives s'offrent au spécialiste berlinois du séquençage d'ADN, AGOWA genomics, appartenant depuis 2005 au groupe LGC : des capacités bien plus élevées, un plus haut débit et un accès au décryptage des génomes complexes. Après plus de 20 ans, l'automatisation du séquençage classique par la méthode de Sanger a atteint ses limites de productivité. Les technologies du «Next Generation Sequencing» permettent un tout nouveau type de service.

AGOWA genomics vient de mettre en service le tout nouveau séquenceur « Roche Genome FLX Titanium », introduit depuis peu sur le marché. L'équipe de séquençage, spécialement formée et sous la direction de Dr. Gerald Nyakatura, qui possède plusieurs années d'expérience dans la technologie de „Next Generation Sequencing“, a d'ores et déjà effectué avec succès plusieurs projets de séquençage pour des instituts.

Les différences concernant la performance et les avantages de coût entre les anciens et les nouveaux systèmes sont surprenantes. Les nouvelles performances de séquençage comprennent :

- Le séquençage de novo des génomes procaryotes et eucaryotes.
- La finition de séquençage de novo
- L'analyse de métagénomiques, de transcriptomes / ADNc normalisé, de modèles de méthylation ainsi que de Pools de fosmidés et de BACs
- Le reséquençage ciblé (séquençage d'exon/amplicon)
- ChIP et séquençage d'ARN non codant

Comparaison des technologies

Dans la théorie, cette nouvelle technologie NGS est décrite comme étant une innovation « révolutionnaire » ou « discontinue ». Toutefois, il ne s'agit pas d'une évolution linéaire ou d'une mise à niveau d'instruments existants. Le séquençage conventionnel par la méthode de Sanger exécute – même en combinaison avec des appareils hauts de gamme – les réactions de séquence, pour l'essentiel, une par une et à l'extérieur de l'appareil. Le séquenceur est uniquement utilisé pour la séparation et la détection des fragments d'ADN séquencés. Ceci complique le traitement parallèle des échantillons et limite le nombre d'échantillons, pouvant être analysés en même temps, à 96. Un appareil classique de technologie Sanger (Applied Biosystems 3730xL) peut générer approximativement 350 millions de bases d'ADN par an. Cette nouvelle technologie représente un immense pas en avant concernant le nombre de réactions de séquence pouvant être réalisées parallèlement. Ceci est notamment rendu possible par le transfert de la réaction de séquence vers le séquenceur.

La technologie utilisée par le séquenceur GS FLX emploie la méthode de pyroséquençage. Des molécules d'ADN isolées sont, à l'aide de primers spécifiques pour le séquençage et la PCR, immobilisées sur des microparticules. Cet ADN est amplifié par la méthode de PCR en émulsion (emPCR), afin qu'un signal assez puissant soit créé lors du séquençage. Le séquençage se fait par synthèse du brin complémentaire d'ADN. Lors de chaque insertion d'un nucléotide, du pyrophosphate est libéré, servant de substrat à une réaction enzymatique libérant des photons. Ceux-ci sont mesurés à l'aide d'une caméra CCD.



Les images sont ensuite traitées par un logiciel qui déduit la séquence de bases correspondantes. Jusqu'à 1,2 millions de séquences uniques peuvent être produites en une seule analyse grâce au nouveau séquenceur Roche GS FLX Titanium., correspondant à 500 millions de nucléotides par run.

Séquenceur Roche Genome FLX Titanium

La série Roche GS FLX Titanium est une amélioration de la série Roche GS FLX et offre un plus haut débit d'analyse tout en conservant les résultats de haute qualité et en diminuant les coûts par échantillon. Ceci est essentiel pour les travaux de recherches sur le déchiffrement de génomes complets. Par conséquent, le NGS est un pas vers des domaines de développement encore inconnus. La demande des clients tend fortement vers les analyses de génomes – lors de ces analyses, le génome complet d'un organisme est

séquencé en très peu de temps – cet outil ouvre également de nouveaux champs d'applications dans le domaine de la biotechnologie et de la médecine.

« Il existe actuellement sur le marché cinq constructeurs qui proposent de nouvelles technologies. Dans le cadre de notre analyse interne, nous avons pris en considération les remarques et suggestions de nos clients, de centres de recherches européens parmi les plus renommés et de collègues du département « Research & Technology » de LGC. Nous avons pu ainsi profiter de notre expérience en génomiques des 15 dernières années. De cette vaste analyse, il résulte que le système Roche s'adapte parfaitement aux besoins d'AGOWA genomics pour les projets à venir de ses clients et la recherche interne au groupe LGC. Nous restons attentifs à l'évolution rapide des technologies, car la « troisième génération de séquenceurs » est déjà en cours »

L'extraction sous pression: le SpeedExtractor



- Gain de temps: 6 extractions en même temps
- Economie: Coût de fonctionnement minimum
- Simplicité: utilisation intuitive et aisée
- Solution complète: Evaporation parallèle possible avec le Multivapor Buchi

BUCHI Sarl
94656 Rungis Cedex/France
T +33 1 56 70 62 50
F +33 1 46 86 00 31

www.buchi.fr

Extraction de 6 échantillons en 20 minutes!

Quality in your hands