

Recommandations et contrôles qualité des échantillons avant envoi pour séquençage

Avant d'envoyer vos échantillons, assurez-vous que la qualité et la quantité correspondent aux recommandations décrites dans ce document, selon la prestation établie dans le devis. Ces recommandations permettent d'être dans les meilleures conditions pour le bon déroulement de la prestation, et pour obtenir une qualité et un résultat de séquençage satisfaisants.

Veillez à ce que tous les échantillons d'un même projet aient une concentration et un volume homogène, afin d'effectuer la prestation dans les mêmes conditions pour tous les échantillons.

Séquençage de génome	2
Séquençage d'exome humain	2
Séquençage des ARN	3
Séquençage des cellules uniques	4
Autre type de prestations proposées	4
Modalités d'envoi des échantillons	5

Séquençage de génome

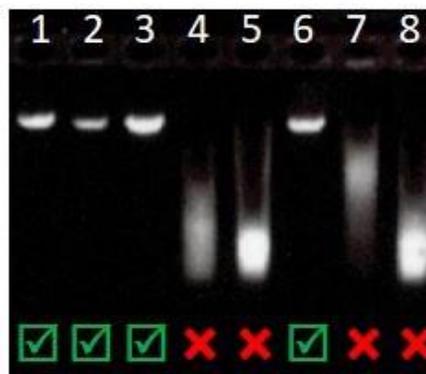
Espèce	Kit	Quantité mini	Volume maxi	Dosage
Humain et non Humain	Illumina DNA Prep (M) (Illumina)	20 à 150 ng	30 µl	Qubit + gel d'agarose ou bioanalyser ou équivalent
Humain et non Humain	NEB Ultra II FS (NEB)	100pg à 500 ng	26 µl	

Séquençage d'exome humain

Kit librairie	Sondes de capture	Quantité mini	Volume maxi	Dosage
KAPA Hyperplus (Roche)	Twist Bioscience)	100 ng d'ADN	35 µl	Qubit + gel d'agarose ou bioanalyser ou équivalent

Contrôle qualité des ADNs :

Les échantillons d'ADN doivent être contrôlés sur gel d'agarose et ne pas contenir de traces de dégradation. Voici un exemple de contrôle qualité d'ADN :



✓ = ADN non dégradé
× = ADN dégradé

Séquençage des ARN

Type d'ARN recherchés	Kits	Quantité d'ARN total	Volume maxi	Dosage
ARNm	Stranded mRNA (Illumina)	25 ng à 1µg	25 µL	Nanodrop + bioanalyser ou équivalent
	Smartseq V4 (Takara)+ Nextera XT (Illumina)	10 pg à 10 ng	9,5 µL	
ARN total avec déplétion des ARN des globines et ribosomaux	Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus (Illumina)	1 ng à 1µg	11 µL	
ARN dégradés	QuantSeq 3' mRNA-Seq Lib Prep Kit FWD (Lexogen)	300 ng	10 µL	
	Smartseq Toal RNA pico Input with UMIs (Takara)	0,25ng à 1µg	8 µL	
microARN extraits de cellules/tissus	Qiaseq miRNA Library (Qiagen)	1 ng à 500 ng	5 µL	
microARN extraits de sérum/plasma	Qiaseq miRNA Library (Qiagen)*	5 µl d'ARN	5 µL	

*Utiliser le kit d'extraction compatible aux échantillons plasma/sérum miRNeasy Serum/Plasma Kit (Qiagen), et éluer 5 µl d'ARN à partir de 200 µl de sérum ou plasma

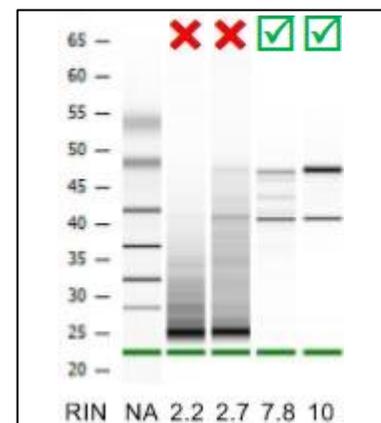
Contrôle qualité des ARNs :

Pour pouvoir être utilisable, les ARN doivent être au préalable contrôlé sur Bioanalyzer, TapeStation (Agilent Technologies) ou équivalent. Ils doivent être intacts, avec un **score RIN** (RNA Integrity Score) de plus de 7 pour tout séquençage mRNA (selection PolyA).

RIN < 4 : ARN dégradé

4 < RIN < 7 : ARN en cours de/début de

dégradation 7 < RIN < 10 : ARN de bonne qualité



Séquençage des cellules uniques

Single cell 3'RNA-Seq : La plateforme iGenSeq prend en charge vos échantillons de cellules en suspension, réalise l'encapsulation et le barcoding, puis la préparation de bibliothèques, le séquençage et l'analyse primaire des données.

Séquençage	Technique	Quantité	Volume	Contrôles qualité à faire par le client
Cellules uniques	Single cell gene expression (10X Genomics)	1000-20000 cellules *	43,1 µL	Comptage cellulaire et viabilité cellulaire : 70% minimum

* Quantité de cellules en entrée, pour avoir 500 à 10 000 cellules analysées.

Les cellules doivent être en suspension dans du tampon **PBS 1X à 0,2 % de BSA**

maximum. Autre banque 10X genomics : séquençage en mode ready-to-seq

Autre type de prestations proposées

Service	Kit	Quantité	Volume	Dosage
ChIP-Seq	Échantillons ChIP préparé et fragmenté par le client. Bibliothèque préparée par iGenSeq -TruSeq ChIP (Illumina)	5 à 10 ng	50 µl	Qubit + gel d'agarose ou bioanalyser ou équivalent
ATAC-Seq	Bibliothèque préparée par le client	--	10 µL minimum	
Autres bibliothèques	Bibliothèque préparée par le client	4 nM	10 µL (MiSeq) à 400 µL (NovaSeq)	

Modalités d'envoi des échantillons

Après avoir contrôlé qualitativement et quantitativement vos échantillons, vous pouvez préparer l'envoi de vos échantillons. Une **liste sous format numérique** doit être envoyées en même temps que les échantillons, contenant de façon claire les informations suivantes pour chaque échantillon :

- Nom/ identifiant (comme écrit sur le tube, ou position de la plaque)
- Concentration échantillons si disponible, sous format numérique seulement, ainsi que la méthode de dosage
- Volume des échantillons, sous format numérique seulement
- Quantité
- Type d'échantillons (ARN, ADN, ADNc)
- Provenance des échantillons (espèce, virus, bactérie, autre)
- Taille des génomes viraux ou bactériens

Merci de prévenir avant d'envoyer vos échantillons afin que nous puissions planifier votre prestation et éventuellement commander les réactifs nécessaires, ce qui raccourcira les délais de réalisation.

S'il s'agit d'une prestation **ready-to-seq** (séquençage seul), veuillez mentionner :

- La concentration de chargement
- Les ajouts ou non de PhiX
- Toute mention particulière liée au séquençage

Adresse d'envoi :

Yannick MARIE
Plateforme iGENSEQ, 2^e
étage Institut du Cerveau
(ICM) Hôpital de la Pitié-
Salpêtrière 47 bd de l'Hôpital
CS21414
75646 Paris Cedex 13

Conditionnement des échantillons :

Veillez respecter le format suivant pour l'envoi des échantillons, en fonction du nombre d'échantillons (**n**) contenu dans le projet :

Si n < 20 : tubes 1,5 mL (type Eppendorf) annotés individuellement avec marqueur indélébile

Les conditionnements suivants ne seront pas acceptés :

- Tubes inférieurs à 1,5 mL (exemple : microtubes 0,5 mL)
- Tubes non annotés



Si n > 20 : plaque 96 puits, scellée avec film adhésif ou bouchons optiques. Les échantillons doivent être placés en **colonne complète de 8 échantillons**.

La liste des échantillons doit indiquer la position sur la plaque de chaque échantillon. Les conditionnements suivants ne seront pas acceptés :

- Film adhésifs percés à la réception
- Plaques non annotées



Modalités d'envoi des échantillons :

Type d'échantillon	Moyen de transport	Conditions de transport
ADN	Remis en mains propres, par la poste, ou transporteur spécialisé	Température ambiante
ARN		Carboglace
Librairie prête à séquencer		Glace ou température ambiante
Cellules	Convenir un créneau avec les opérationnels. Cellules remises en mains propres avant 15h00	Glace