



## SERVICES DE SÉQUENÇAGE DE NOUVELLE GÉNÉRATION

Centre d'expertise et de services Génome Québec

# Guide de l'utilisateur: Technologies de séquençage Illumina – DNA-Seq

Version 7.0

# Table des matières

<b>TABLE DES MATIÈRES .....</b>	<b>2</b>
<b>DIRECTIVES GÉNÉRALES POUR LA PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS D'ADN .....</b>	<b>3</b>
CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES .....	3
QUANTITÉ D'ÉCHANTILLONS D'ADN À FOURNIR.....	4
FORMATS REQUIS POUR L'ENVOI DES ÉCHANTILLONS.....	5
<b>DEMANDE DE SERVICE ET SOUMISSION DES ÉCHANTILLONS .....</b>	<b>6</b>
<i>LE TRAVAIL DANS LE LABORATOIRE NE DÉBUTERA QU'UNE FOIS TOUTE LA DOCUMENTATION FOURNIE.</i> .....	6
FORMULAIRE DE DEMANDE DE SERVICE.....	6
FORMULAIRE DE SOUMISSION DES ECHANTILLONS.....	6
PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS .....	7
ADRESSES POUR L'ENVOI DES ÉCHANTILLONS .....	8

# Directives générales pour la préparation des échantillons d'ADN

## Considérations générales

Contactez [libprepservices@genomequebec.com](mailto:libprepservices@genomequebec.com) pour toute question technique.

**Les recommandations indiquées dans ce document ont pour but de faciliter l'obtention de résultats de séquençage de la plus haute qualité possible dans les meilleurs délais. Tous les échantillons qui ne se conforment pas à ces recommandations pourraient être refusés sans compensation.**

Lorsque vous soumettez des échantillons, il est recommandé de :

- fournir des échantillons de la plus grande qualité et pureté possible
  - les ratios densité optique 260/280 entre 1,8 et 2,0
  - les ratios densité optique 260/230 > 2,0
  - ne doivent pas contenir de matériel insoluble, d'ARN, d'agents chélatants (ex. EDTA), des cations divalents, des détergents ou des contaminants provenant du matériel de départ (organisme ou tissu)
- extraire l'ADN avec des troussees commerciales plutôt que des solutions maison,
- purifier l'ADN avant de soumettre les échantillons à la plateforme,
- resuspendre l'ADN dans du 10 mM Tris-HCl pH 8.0; 0,1 mM EDTA (une concentration plus élevée d'EDTA peut inhiber certaines réactions enzymatiques),
- mesurer la concentration d'ADN en utilisant des méthodes fluorométriques plutôt que spectrophotométriques (ex. Nanodrop) qui ont tendance à surestimer la concentration des échantillons, rendant la quantité de matériel de départ inadéquate,
- s'assurer de l'intégrité des échantillons sur gels d'agarose,
- s'assurer que la quantité correspond aux valeurs spécifiées dans la section [Quantité d'échantillons d'ADN à fournir](#),
- mesurer précisément le volume de chaque échantillon et consigner ces valeurs dans le Formulaire de demande de service. Lorsque les volumes ne correspondent pas aux valeurs indiquées dans le Formulaire de service, ces dernières auront préséance.

L'identification de chaque échantillon doit correspondre exactement à ce qui est indiqué dans le formulaire de demande de service.

## Quantité d'échantillons d'ADN à fournir

Si le volume d'échantillon est inférieur au minimum indiqué, le Centre d'innovation se réserve le droit de diluer l'échantillon au volume requis ou de refuser l'échantillon.

Un volume de 3 µL est d'abord utilisé pour le contrôle de qualité (QC) d'ADN.

La concentration des échantillons ne doit pas être supérieure à 150 ng/µL.

Tableau 1. Sommaire de la quantité d'échantillons d'ADN requise

<b>Source d'acide nucléique</b>	<b>Type de librairie</b>	<b>Quantité requise (ng)</b>	<b>Volume Requis (µL)</b>
	`shotgun' ADN standard (avec PCR)	150	25-50
	`shotgun' ADN sélection de taille sur gel (avec PCR)	500	25-50
	`shotgun' sans PCR	1500	25-50
	WGBS	700	25-50
	Capture (SureSelect)	300	25-50
	Capture (Roche Nimblegen)	300	25-50
	Methyl-Capture (Roche Nimblegen)	2000	25-50
ADN ChIP	ChIP-Seq <sup>‡</sup>	10	25-50

<sup>‡</sup> L'intervalle de tailles acceptables des fragments pour des échantillons ChIP-Seq se situe entre 100 et 300 pb.

Les échantillons de remplacement doivent avoir la quantité totale requise. Les remplacements partiels (« top-ups ») seront refusés.

Des frais supplémentaires de QC s'appliqueront à chaque échantillon de remplacement.

Un volume de 10-15 µL est requis pour des projets de contrôle de qualité (QC) d'ADN seulement.

## Formats requis pour l'envoi des échantillons

Les échantillons doivent être envoyés en plaques 96 puits, peu importe le nombre.

Il doit y avoir un échantillon par puits, par type de librairie.

Deux types de plaques sont acceptés:

- Eppendorf twin.tec, Full Skirt, Cat# 951020401 ← PREMIER CHOIX
- Corning Thermowell GOLD, Full Skirt, Cat# 3752 ← SECOND CHOIX

Nous recommandons les films adhésifs suivants:

- Life Technologies MicroAmp® Clear Adhesive Film, Cat# 4306311
- VWR AluminumFoil for PCR and Cold Storage, Cat# 60941-074

Les procédures ont été optimisées afin de traiter un haut débit d'échantillons. Tout autre format de plaques pourrait endommager les robots utilisés pendant ces procédures. Par conséquent, les échantillons soumis dans des contenants ne se conformant pas aux exigences seront transférés dans une plaque acceptable. Des frais seront facturés à l'utilisateur.

Chaque plaque ne doit contenir que des échantillons appartenant à un seul projet.

Les directives décrites ci-haut s'appliquent aussi pour des projets de contrôle qualité d'ADN.

## Demande de service et soumission des échantillons

*Le travail dans le laboratoire ne débutera qu'une fois toute la documentation fournie.*

### Formulaire de demande de service

Ouvrir une session dans le compte [Nanuq](#).

Cliquer sur « [ajouter une nouvelle requête](#) » dans la section « Requête » et suivre les instructions.

Ne pas utiliser le bouton « retour » de votre navigateur pour revenir en arrière. Utiliser les choix de pages à gauche.

La requête demeure un brouillon jusqu'à ce qu'elle soit soumise. Les brouillons sont accessibles via l'option « [liste des requêtes](#) ». Vous devez cliquer sur Soumettre pour que votre requête soit approuvée par le bureau de gestion client. Les requêtes non soumises ne sont pas traitées ou peuvent voir leurs délais allongés.

### Formulaire de soumission des échantillons

Ouvrir une session dans le compte [Nanuq](#).

Pour soumettre de nouveaux échantillons, aller à la section « soumission d'échantillons » et cliquer sur le bouton « + Ajouter des nouveaux échantillons ADN/ARN/Cellule ».

Dans la Catégorie d'échantillons : choisir « ADN ». Si les échantillons doivent être extraits chez Génome Québec, choisir « oui » à la question : est-ce que vos échantillons ont besoin d'extraction. Si les échantillons sont extraits par le client, choisir « non ».

Remplir le reste du questionnaire et le tableau de soumission des échantillons. Cliquer sur «soumettre».

Pour revisiter des fichiers déjà remplis et soumis, cliquer sur le nom du formulaire déjà soumis.

Ne pas ajouter de nouveaux échantillons à un tableau déjà soumis. Recommencer à l'étape « +Ajouter de nouveaux échantillons ADN/ARN/Cellule.

Ne pas se servir du bouton « retour » de votre navigateur pour revenir en arrière.

Veillez noter que les échantillons seront entrés dans notre base de données et traités dans le même ordre que celui indiqué dans le formulaire de soumission d'échantillons. Ainsi, pour les projets Methyl-Seq et ChIP-Seq, il est de votre responsabilité de disposer les échantillons de manière à minimiser la variabilité technique engendrée par le séquençage en randomisant les échantillons selon le groupe expérimental auquel ils appartiennent.

Par ailleurs, il n'est pas garanti que des demandes particulières quant au mélange des bibliothèques pour le séquençage soient honorées et ce, afin de maximiser la capacité sur les instruments. La plateforme se réserve le droit de modifier les schémas de multiplexage sans en aviser l'utilisateur. Les demandes particulières doivent être indiquées dans la colonne des commentaires du formulaire de soumission des échantillons.

## Préparation des échantillons

Les envois doivent inclure une copie du bordereau.

Les plaques d'échantillons devraient être envoyées sur glace sèche. Si l'envoi contient des objets lourds qui peuvent endommager la plaque durant le transport (ex : blocs de glace sèche, ice pack), il est recommandé de protéger la plaque contre les impacts.

Un envoi doit contenir suffisamment de glace sèche pour que les échantillons demeurent congelés jusqu'à destination. Le dégel pendant le transport peut résulter en une perte d'adhérence du scellant sur la plaque, ce qui peut mener à la perte d'échantillons ou bien à une contamination croisée entre les échantillons.

Les échantillons devant traverser la frontière canadienne devraient être envoyés en début de semaine afin d'éviter tout risque que ceux-ci soient retardés et conservés à l'entrepôt du transporteur durant la fin de semaine. L'utilisation de phrases claires telles que: "*Non-biohazardous biological sample*", "*Purified DNA from [species]*", "*For research use only*", et "*Of no commercial value*" aidera à accélérer le dédouanement.

Les échantillons peuvent être apportés directement au Centre, mais ces envois doivent être coordonnés avec le personnel autorisé avant la livraison. Les heures d'ouvertures pour le dépôt d'échantillons sont de 7H à 12H et 13H à 16H du lundi au jeudi et de 13H à 16H le vendredi.

N'envoyez que des aliquots de vos échantillons. Ceux-ci seront conservés pendant 3 mois après la complétion du service. Ils seront détruits par la suite à moins que la réponse « Oui » à la question « Désirez-vous que vos échantillons et vos oligos originaux vous soient retournés? » dans le champ « Destruction des échantillons originaux » de l'onglet « Information sur échantillons » du formulaire de requête ait été choisie.

## **Adresses pour l'envoi des échantillons**

L'adresse de livraison ainsi que des directives concernant l'acheminement de vos échantillons se trouvent sur le bordereau d'expédition.