
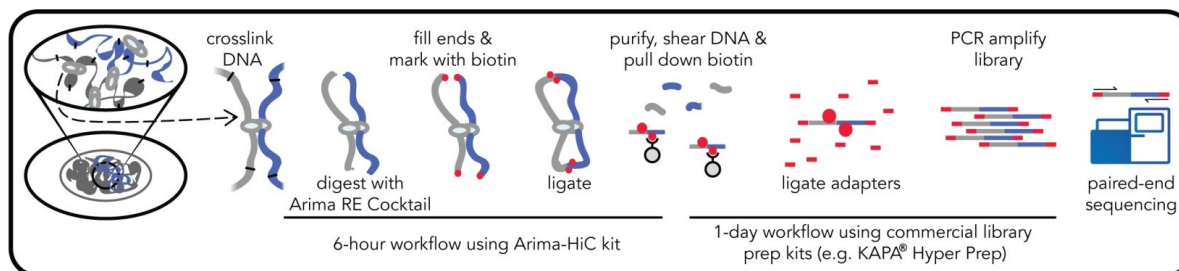


E-EXP-25	Fiche prestation	Date : 20/10/2020 Version 1
	Construction de banque HiC	Page 1/2

La méthode de HiC est une technique qui permet d'explorer la structure tri-dimensionnelle du génome en combinant une technique de ligation de proximité et le séquençage haut débit. Cette technique est notamment utilisée en séquençage *de novo* pour l'assemblage en chromosomes ou lors de l'étude de l'organisation du génome (TADs, etc.).

Construction des banques :



A partir d'un échantillon de tissu, la plateforme va réaliser :

- Le broyage de l'échantillon en azote liquide.
- Le cross-linking de l'ADN.
- Une digestion enzymatique.
- Une réparation avec des nucléotides biotinylés.
- La ligation des fragment proches.
- La sonication de l'ADN
- La capture des fragments biotinylés.

Ces fragments serviront ensuite de matrice pour la construction d'une banque compatible avec un séquençage sur machine Illumina.

Séquençage

Le séquençage est réalisé sur Novaseq (Illumina) ou sur Miniseq (Illumina) par la méthode de Sequence By Synthesis (SBS).

Cf fiche EXP-50 Séquençage Illumina sur Novaseq.


EXP-51 Séquençage Illumina sur Miniseq.

Matériel initial

La qualité du résultat final étant très fortement liée à la qualité des échantillons initiaux, il est donc important d'éviter toute dégradation excessive de l'ADN.

Quantités minimale	Suffisamment de tissu pour obtenir entre 3 et 10µg d'ADN
Particularités	Le tissu doit être de préférence frais mais peut également être congelé.

Les tubes doivent être bien identifiés et correspondre aux informations notées sur la fiche échantillon dont une version vierge sera envoyée par le plateau technique.

E-EXP-25	Fiche prestation	Date : 20/10/2020 Version 1
	Construction de banque HiC	Page 2/2

Contrôle qualité

Tout au long de l'expérimentation, des tests sont réalisés par le personnel habilité pour valider ou non les différentes étapes. Ces tests sont les suivants :

Quantité d'échantillons	
Quantité de matériel après le broyage et le cross-linking	750 ng à 5µg.
QC1 (pourcentage de fragments d'ADN ayant incorporé de la biotine après la réparation)	> 15 %
QC2 (proportion d'ADN engagée dans la PCR finale par rapport à celle engagée dans la construction après la sélection de taille)	> 0,2 %
Efficacité de la fabrication des banques	
Taille moyenne (adaptateurs inclus)	Env. 450 pb
Concentration	3 nM

Gestion du projet

Tout au long de l'expérimentation, vous pourrez suivre l'avancement du traitement de vos échantillons sur notre gestionnaire de projet (connexion sécurisée avec identifiant et mot de passe). Les différentes étapes du traitement seront validées par l'opérateur séquençage au fur et à mesure de l'avancement.

Dans la mesure où la plateforme constaterait que l'un des contrôles qualité donnés ci-dessus n'est pas rempli, le client sera contacté le plus rapidement possible pour déterminer avec lui la meilleure solution à apporter au problème.

Conditions et durée de conservation des échantillons et des données

Les échantillons d'ADN sont conservés à -20°C dans nos congélateurs, avec un système de congélateur de secours en cas de problème.

Une fois l'analyse réalisée et les données transférées au client, les reliquats d'échantillon et les banques produites seront éliminés.