

E-EXP-50	Fiche prestation	Date : 11/09/24 Version 3
	Séquençage sur NovaSeq 6000	Page 1/3

La plateforme MGX propose un séquençage sur NovaSeq 6000 d'Illumina.

Ce séquenceur utilise la technique de séquençage par synthèse (SBS) à deux canaux et offre la possibilité d'utiliser plusieurs types de flow cell en fonction du besoin en volume de séquençage et/ou en longueur de lecture.

Le séquençage SBS 2 canaux :

Le séquençage SBS 2 canaux n'utilise que 2 marqueurs fluorescents pour identifier les 4 bases qui peuvent être incorporées à chaque cycle de séquençage.

A chaque cycle de séquençage, après incorporation des nucléotides, 2 séries d'image seront réalisées, l'une utilisant un filtre dans la longueur d'onde rouge et l'autre un filtre dans la longueur d'onde verte :

- Les clusters identifiés dans les images rouges ou vertes auront incorporé respectivement un C ou un T.
- Les clusters identifiés dans les deux images à la fois auront incorporé un A.
- Les clusters non identifiés dans les deux images auront incorporé un G.

4-Channel Chemistry					2-Channel Chemistry					1-Channel Chemistry				
	A	G	T	C		A	G	T	C		A	G	T	C
Image 1	●				●			●		●				
Image 2		●						●					●	
Image 3			●										●	
Image 4				●										●
Result	A	G	T	C	A	G	T	C	A	G	T	C	A	C

----- Intermediate chemistry step

Figure 1: Comparaison des techniques SBS à 4, 2 et 1 canal

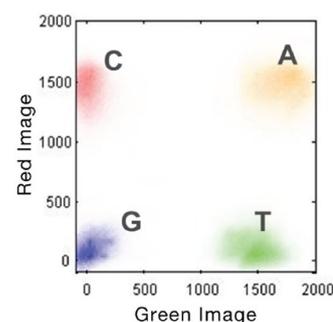


Figure 2: Détection des différentes bases dans un système SBS 2 canaux

Ce type de séquençage à 2 couleurs est utilisé sur les séquenceurs de type MiniSeq, NextSeq et NovaSeq.

Les différents types de flow cell, modes de séquençage et débits associés :

En fonction de votre besoin en volume de données, le plateau technique vous proposera d'utiliser un des 4 types de flow cell disponibles sur le NovaSeq 6000 :

Type de flow cell	Nombre de pistes individualisables	Débit par piste	Débit par flow cell	Modes de séquençage	Débit (piste/flow cell complète)
SP	2	325 à 400 millions	650 à 800 millions	Single read 100nt	32,5-40Gb / 65-80 Gb
				Paired end 2*50nt	32,5-40Gb / 65-80 Gb
				Paired end 2*150nt	97,5-120 Gb / 195-240 Gb
				Paired end 2*250nt	162,5-200 Gb / 325-400 gb
S1	2	650 à 800 millions	1,3 à 1,6 milliards	Single read 100nt	65-80 Gb / 130-160 Gb
				Paired end 2*50nt	65-80 Gb / 130-160 Gb
				Paired end 2*100nt	130-160 Gb / 260-320 gb
				Paired end 2*150nt	195-240 Gb / 390-480 Gb
S2	2	1,6 à 2 milliards	3,3 à 4,1 milliards	Single read 100nt	160-200 Gb / 330-410 gb
				Paired end 2*50nt	160-200 Gb / 330-410 gb
				Paired end 2*100nt	320-400 Gb / 660-820 Gb
				Paired end 2*150nt	480-600 Gb / 990-1230 Gb
S4	4	2 à 2,5 milliards	8 à 10 milliards	Paired end 2*100nt	400-450 Gb / 1,6-2 Tb
				Paired end 2*150nt	600-750 Gb / 2,4-3 Tb

Tableau récapitulatif des volumes de données produits et des modes de séquençage proposés sur les différents types de flow cells disponibles sur le NovaSeq 6000.

Le contrôle interne au séquençage :

La plateforme technique utilise dans chaque séquençage une banque contrôle construite par Illumina à partir de l'ADN d'un phage, le PhiX.

Cette banque permet de calculer différents paramètres inhérents au run de séquençage (taux d'erreur, phasing/prephasing, etc.).

En augmentant sa proportion dans le run de séquençage, elle permet également de compenser un manque de diversité dans les séquences constituant les banques des échantillons à séquencer.

Ainsi, cette banque contrôle sera présente :

- A hauteur de 1 % des données totales dans un séquençage standard (RNAseq, gDNAseq, smallRNAseq),
- A hauteur de 5 à 10 % des données totales dans un séquençage de banques peu diverses (RADseq, ddRADseq, etc.),
- A hauteur de 10 à 20 % des données totales dans le séquençage de banques très peu diverses (séquençage d'amplicon, RRBS, etc.).

Délais de séquençage :

Les délais annoncés par la plateforme ne seront applicables que si votre projet occupe une flow cell complète.

Restitution des résultats

Une fois le séquençage terminé la plateforme réalise de manière systématique le démultiplexage des séquences, la production des fichiers fastq et un contrôle qualité des données.

Ces données sont récupérables sur un serveur ftp dont le nom et les modalités d'accès vous seront communiquées par mail une fois vos résultats disponibles.

Un rapport de contrôle qualité du séquençage est également remis au moment de la livraison des séquences.

Conditions et durées de conservation des échantillons et des données

De même que pour les échantillons, nous nous engageons à conserver les données issues du séquençage uniquement jusqu'à la fin de l'analyse réalisée par le personnel de la plateforme.

Analyses complémentaires disponibles

Suite au contrôle qualité, le plateau technique peut vous proposer des prestations d'analyse bioinformatique.

Pour en savoir plus, vous pouvez consulter la fiche prestation en bio-informatique correspondant à votre application ou contacter le plateau technique.