

45 minutes Inside – Montpellier GenomiX Facility

Hervé Seitz ; Kévin Callewaere

1^{er} juin 2026

Mise en place des prestations

45 minutes Inside
– Montpellier
GenomiX Facility

Plateforme MGX (Montpellier GenomiX) : 4 plateaux techniques ; activités principales : séquençage à haut débit, analyses bio-informatiques.

Mise en place des prestations

Projet-pilote

Implémentation

Mise en place des prestations

Plateforme MGX (Montpellier GenomiX) : 4 plateaux techniques; activités principales : séquençage à haut débit, analyses bio-informatiques.

- ▶ 2024 : Chromium iX (upgrade en Chromium X en 2025).
- ▶ 2024 : Cytassist
- ▶ 2025 : séquenceur NovaSeq X+

Mise en place des prestations

Plateforme MGX (Montpellier GenomiX) : 4 plateaux techniques ; activités principales : séquençage à haut débit, analyses bio-informatiques.

Projet-pilote : comparaison des technologies Visium HD (10X Genomics) et Trekker (Curio Biosciences), en collaboration avec le labo de Patrice Mollard (IGF, Montpellier) :

- ▶ C. Lafont, IGF : Chrystal.Lafont@igf.cnrs.fr ;
- ▶ T. Moore-Morris, IGF : Thomas.Moore-Morris@inserm.fr ;
- ▶ plateau RHEM-IGF (Anne.Guillou@igf.cnrs.fr) : adaptations de protocoles de coupes de tissu et de dépose sur lame.

Projet-pilote

45 minutes Inside
– Montpellier
GenomiX Facility

Visium HD :

Trekker :

Mise en place des
prestations

Projet-pilote

Implémentation



Coupe de tissu

Projet-pilote

45 minutes Inside
– Montpellier
GenomiX Facility

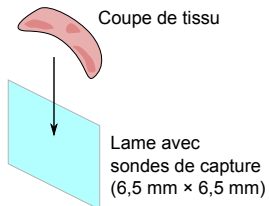
Visium HD :

Trekker :

Mise en place des
prestations

Projet-pilote

Implémentation

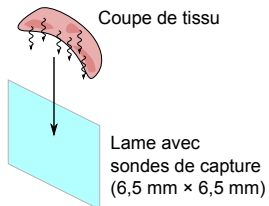


Projet-pilote

45 minutes Inside
– Montpellier
GenomiX Facility

Visium HD :

Trekker :



Mise en place des prestations

Projet-pilote

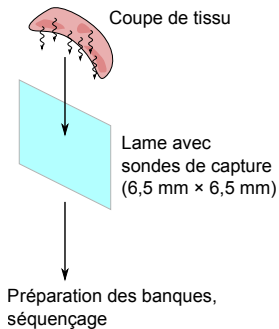
Implémentation

Projet-pilote

45 minutes Inside
– Montpellier
GenomiX Facility

Visium HD :

Trekker :



Mise en place des prestations

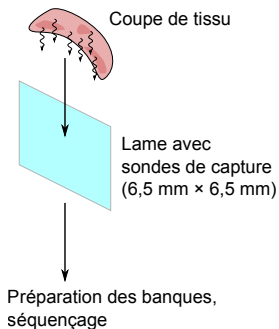
Projet-pilote

Implémentation

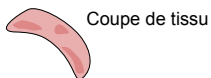
Projet-pilote

45 minutes Inside
– Montpellier
GenomiX Facility

Visium HD :



Trekker :

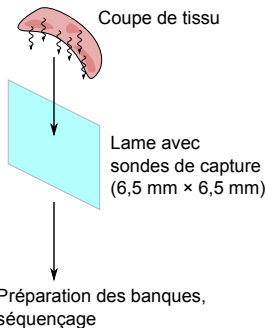


Mise en place des prestations

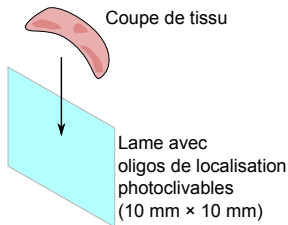
Projet-pilote

Implémentation

Visium HD :



Trekker :

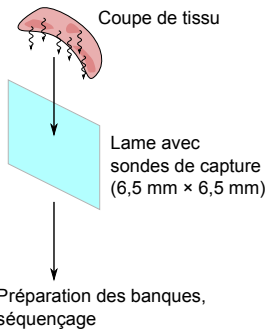


Mise en place des prestations

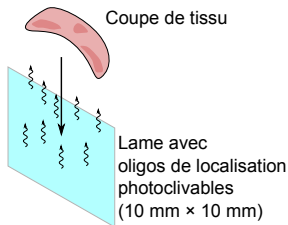
Projet-pilote

Implémentation

Visium HD :



Trekker :

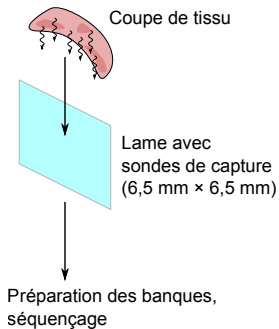


Mise en place des prestations

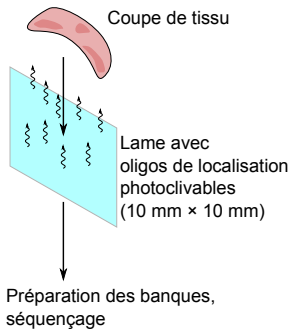
Projet-pilote

Implémentation

Visium HD :



Trekker :

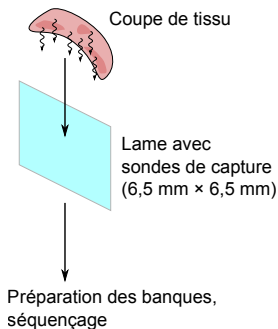


Mise en place des prestations

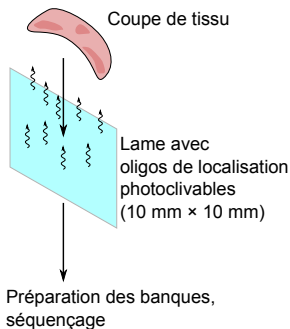
Projet-pilote

Implémentation

Visium HD :



Trekker :



Visium HD : limité Homme et Souris (en 2025) ; Trekker : limité aux noyaux.

Implémentation

45 minutes Inside
– Montpellier
GenomiX Facility

Calendrier :

Mise en place des
prestations

Projet-pilote

Implémentation

Calendrier :

- ▶ Lancement du projet : début 2025.
- ▶ Manips : septembre–décembre 2025 (séquençage : fin 2025, début 2026).
- ▶ Analyses bio-info : mi-2026.

Calendrier :

- ▶ Lancement du projet : début 2025.
- ▶ Manips : septembre–décembre 2025 (séquençage : fin 2025, début 2026).
- ▶ Analyses bio-info : mi-2026.

Préparation des échantillons :

Calendrier :

- ▶ Lancement du projet : début 2025.
- ▶ Manips : septembre–décembre 2025 (séquençage : fin 2025, début 2026).
- ▶ Analyses bio-info : mi-2026.

Préparation des échantillons :

- ▶ Expertise en histologie : plateforme RHEM (réseau d'histologie expérimentale de Montpellier).
- ▶ Coordination avec l'équipe de P. Mollard (échantillons frais).



MGX - NGS

45 minutes Inside - Montpellier GenomiX Facility Transcriptomique Spatiale

❖ Visium HD (10X Genomics)



Principe : capture d'ARN in-situ grâce à des paires de sondes (Visium HD WT) ou des oligo barcodés spatialement (Visium HD 3')

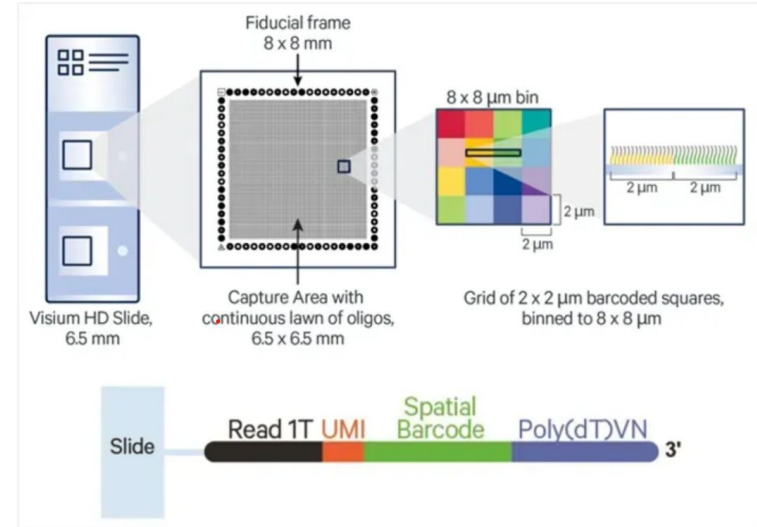


Imagerie intégrée : Combinaison de l'imagerie histologique (H&E ou immunofluorescence) avec les données transcriptomiques → Cytassist



Compatibilité :

- Visium HD WT : Sondes Spécifiques (humain / souris)
- Visium HD 3' : Capture des ARN polyA, compatible avec de nombreuses espèces



Le Visium HD WT a été testé pour ce projet

❖ Visium HD (10X Genomics)



Principe : capture d'ARN in-situ grâce à des paires de sondes (Visium HD WT) ou des oligo barcodés spatialement (Visium HD 3')



Imagerie intégrée : Combinaison de l'imagerie histologique (H&E ou immunofluorescence) avec les données transcriptomiques → Cytassist



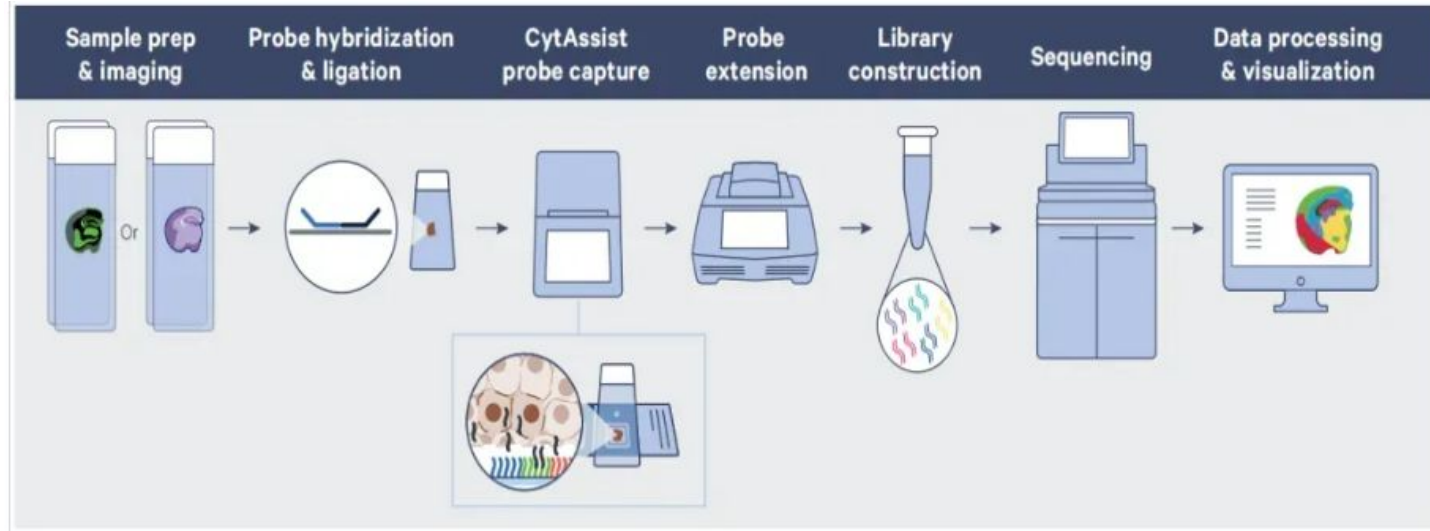
Compatibilité :

- Visium HD WT : Sondes Spécifiques (humain / souris)
- Visium HD 3' : Capture des ARN polyA, compatible avec de nombreuses espèces




Le Visium HD WT a été testé pour ce projet


❖ Visium HD (10X Genomics)




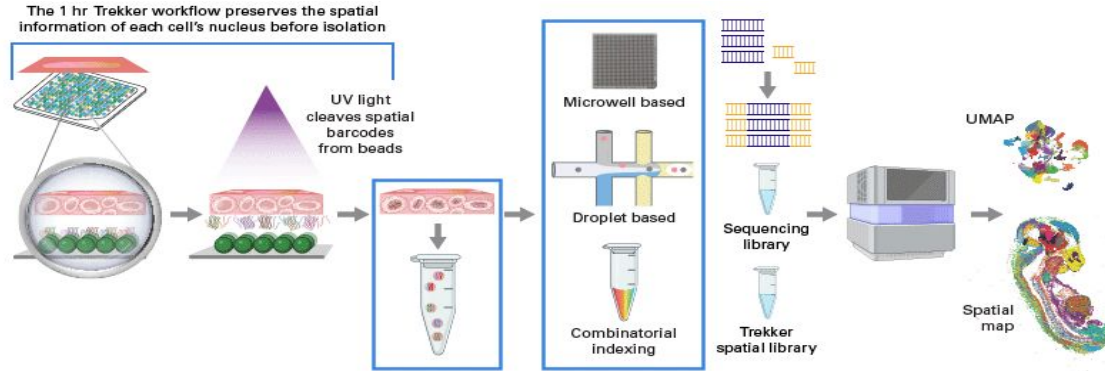
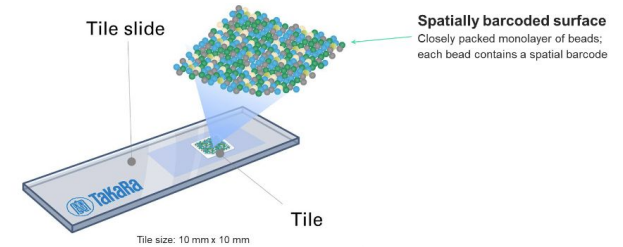
Workflow Visium Whole Transcriptome HD

❖ Trekker (Curio/Takara)

 **Principe** : marquage spatiale grâce à une monocouche de billes contenant barcode unique → Exposition aux **UV** → Libération des codes-barres, absorbés par le tissu

 **Spatialisation** par marquage/barcoding des noyaux → résolution unicellulaire, **sans workflow d'imagerie intégrée** équivalent au CytAssist.

 **Compatibilité** : Adapté à l'humain, la souris, et d'autres espèces modèles.





Visium HD WT (10X Genomics)

Principe	Sondes spécifiques (3 paires/transcrit) sur lame
Type de tissu	Tissus frais congelés, fixés ou FFPE
Morphologie tissulaire	H&E directement intégré (Cytassist)
Résolution	Quasi cellule unique (2 μ m bins)
Logiciel	Space Ranger, Loupe (+ pipeline tierce pour expression différentielle entre tissus)
Point Fort	Architecture tissulaire intacte
Limitations	Signal plus dispersé

Trekker (Curio/Takara)

Principe	Barcodage spatial de noyaux + snRNA-seq
Type de tissu	Tissus frais congelés et FFPE
Morphologie tissulaire	Nécessite données spatiales et histologiques complémentaires
Résolution	Cellule unique / noyau unique
Logiciel	Trekker Analysis Software
Point Fort	Résolution cellulaire maximale
Limitations	Perte du contexte spatiale direct

Condition expérimentale

- **Espèce** : souris
- **Tissu** : Hypophyse
- **Orientation de coupe** : coronale
- **Type de conservation** : Frais congelé

Tests Préliminaires

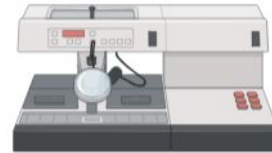
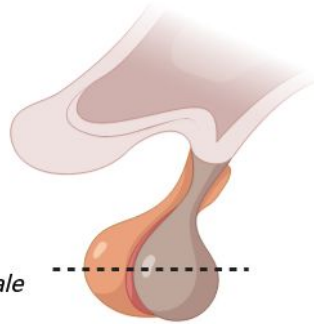
- **Combien de tissus peut-on mettre sur un même bloc ?**
(**Visium** : 6,5mm x 6,5mm / **Trekker** : 10 mm x 10 mm)
- **Est-ce que la qualité des ARN extraits est conforme ?**
(**Visium** : RIN > 4 / **Trekker** : RIN > 7)
- **Combien de noyaux arrive-on à extraire après dissociation ?**
(spécificité **Trekker**)



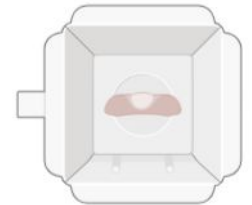
Hypophyse de souris (3-4 mm de large, 500K cellules)



*coupe
coronale*

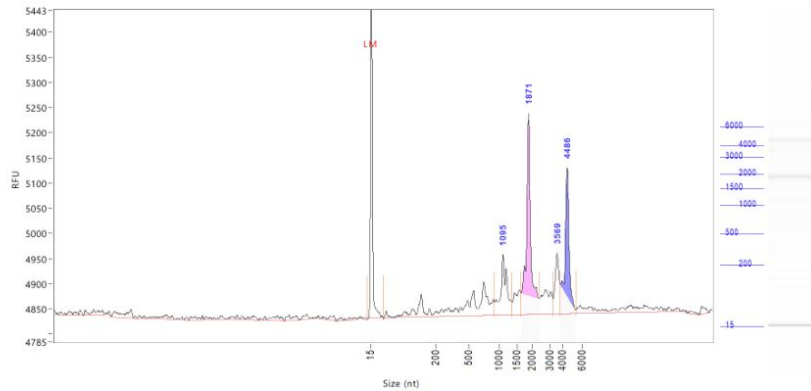


Tissue embedding



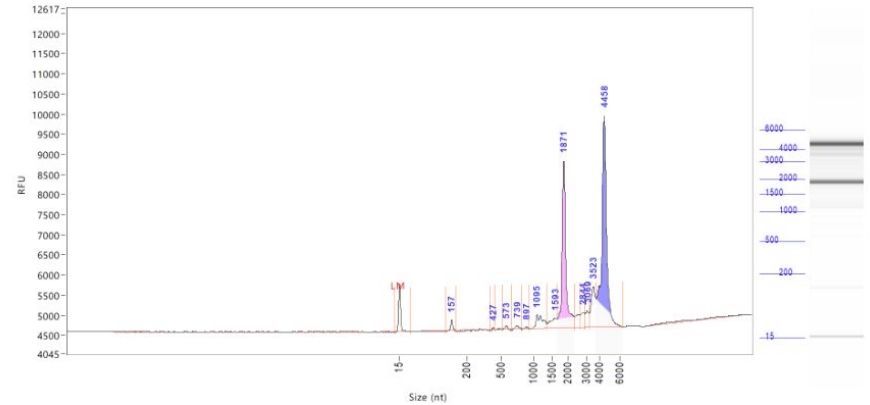
Tests Préliminaires

Sample: L1-Hypophyse entiere
Well location: A5
Created: mardi 3 juin 2025 17:42:55



RIN : 7,4

Sample: L2-5 coupes de 15µm
Well location: A6
Created: mardi 3 juin 2025 17:42:55

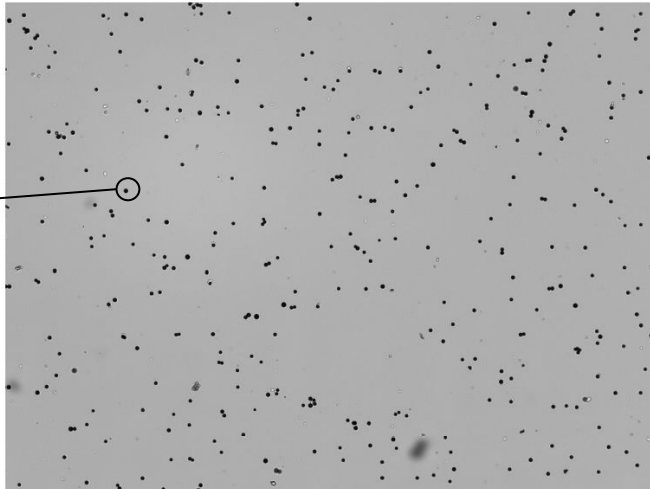


RIN : 9.9

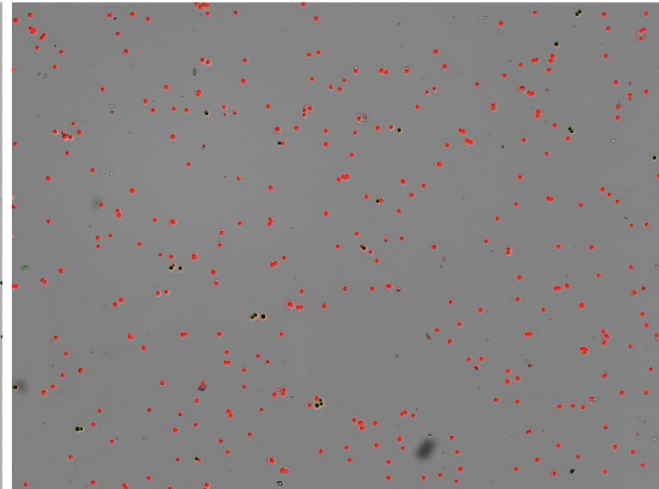
Tests Préliminaires

Billes

Echange
avec Takara
⇒ Problème
de lot de kit



Brightfield

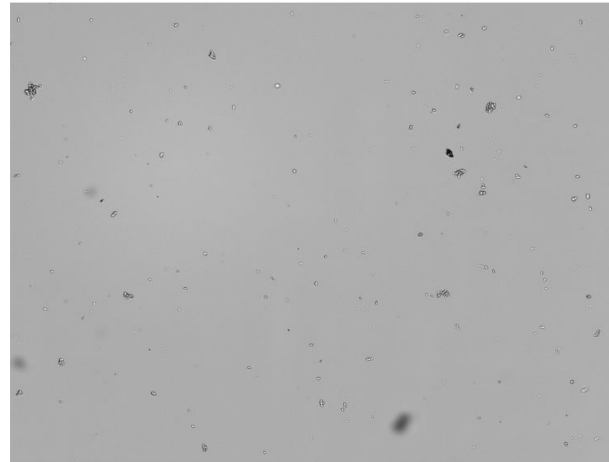


Counted

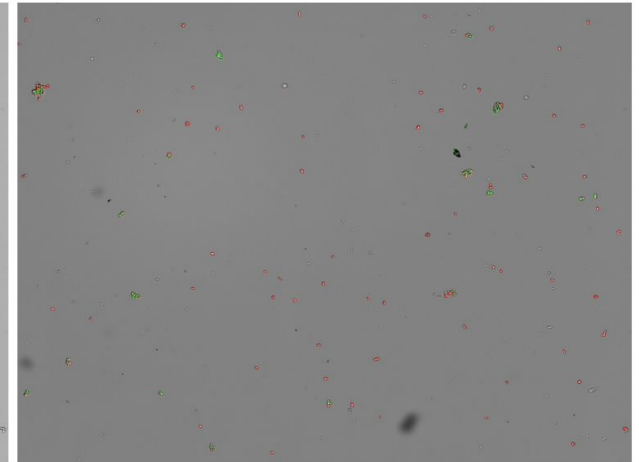
Tests Préliminaires

Avec nouveau kit

- Plus de présence de billes dans l'extraction des noyaux
- Concentration d'environ 40 000 noyaux
- Plusieurs clusters de cellules mal dissociés → à améliorer

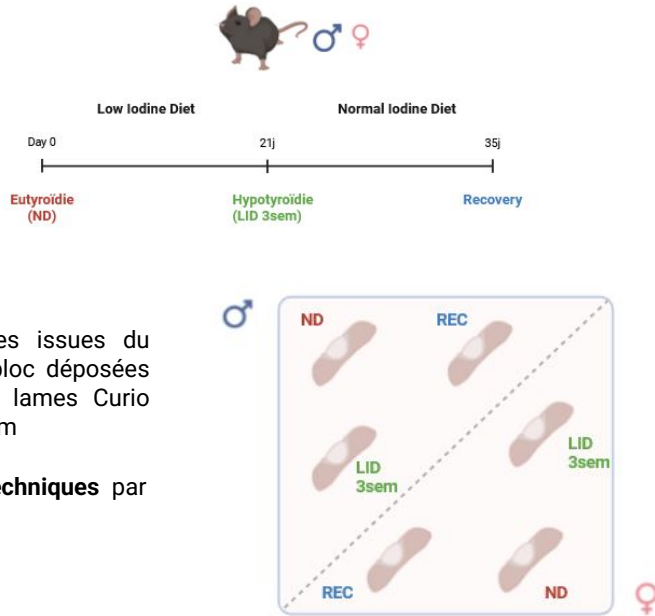


Brightfield



Counted

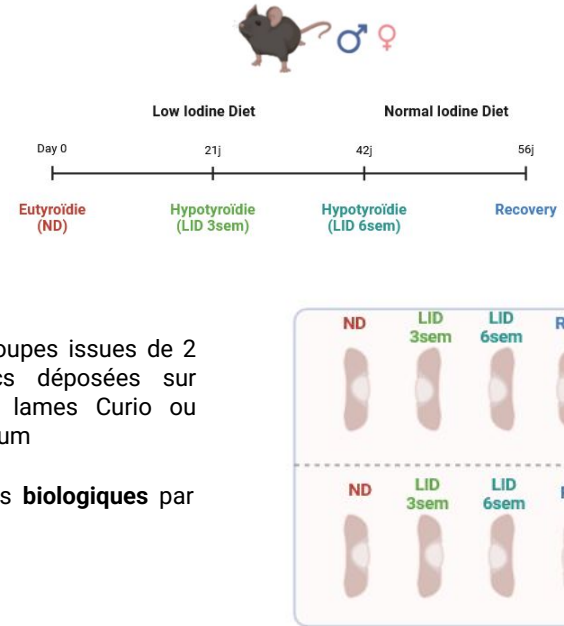
1er design : Manip 1 et 2 (Curio et Visium)



- 2 coupes issues du même bloc déposées sur des lames Curio ou Visium

→ 2 réplicats **techniques** par approche

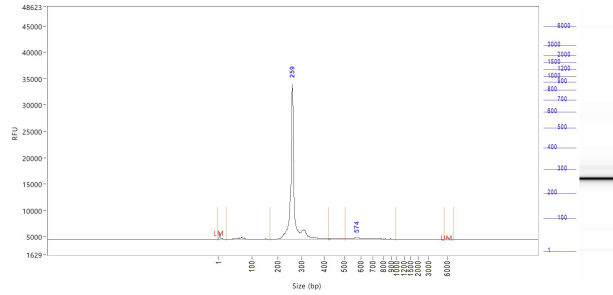
2ème design : Manip 3 et 4 (Curio et Visium)



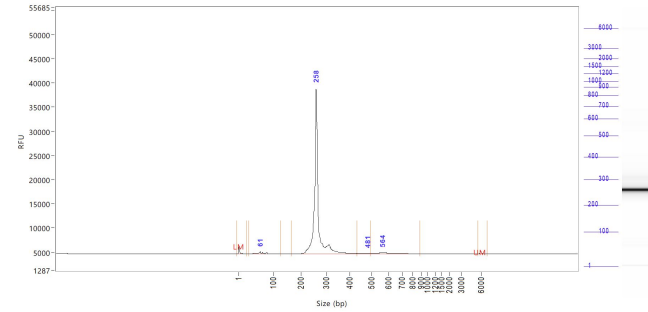
- 2 coupes issues de 2 blocs déposées sur des lames Curio ou Visium

→ 2 réplicats **biologiques** par approche

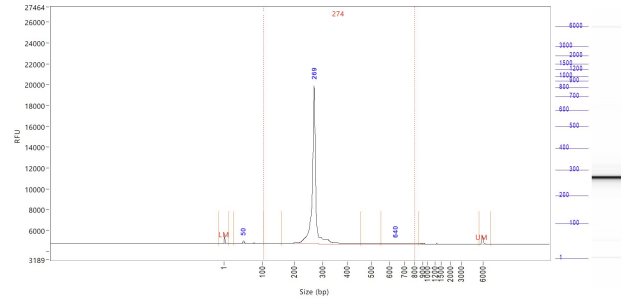
Résultats : Wetlab (Visium 10X Genomics)



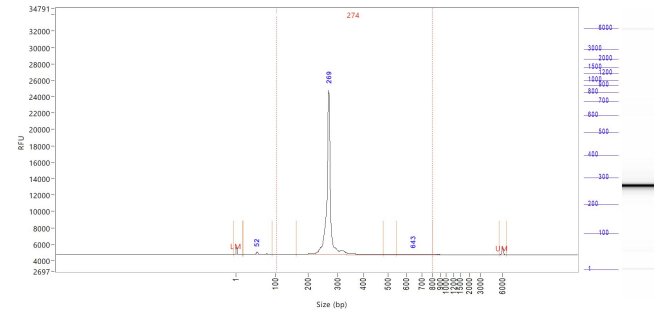
Visium 1



Visium 2

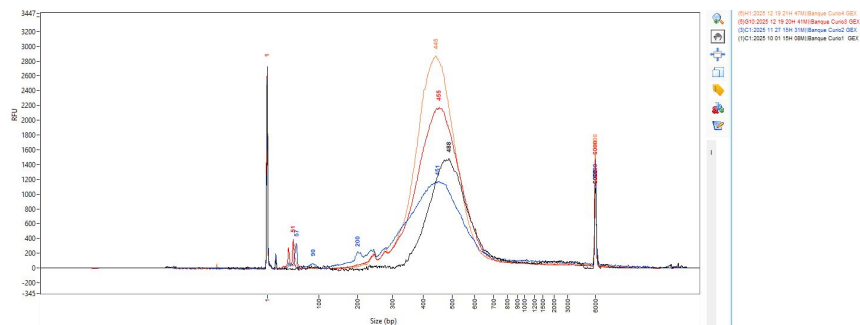


Visium 3

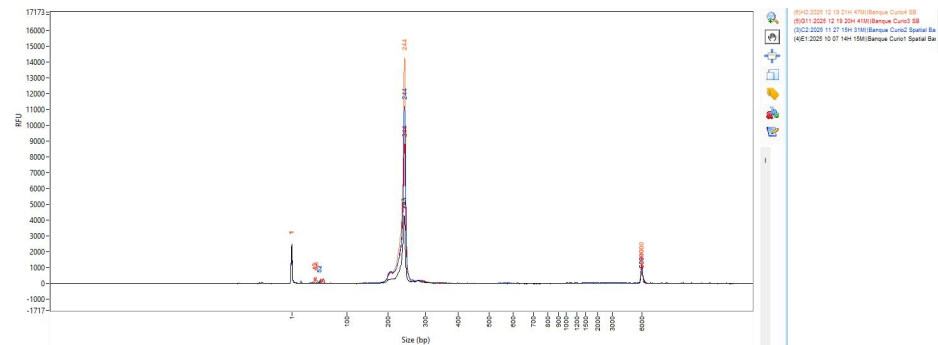


Visium 4

Manip Trekker



Banque GEX



Banque Spatial Barcode

Séquençage : (Visium, 10X Genomics)



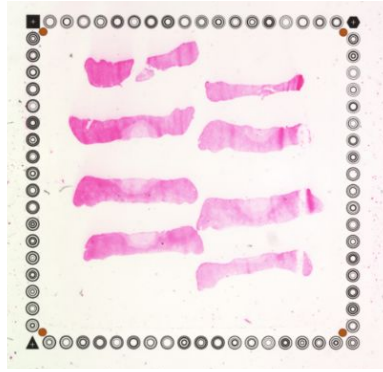
Profondeur : 275 M de séquences minimum par zone de capture complète

- 4 zones de capture avec couverture entre 20% et 35% chacune

⇒ Total : 4 zones ensemble = 104% soit 286 millions de séquences



20% de couverture

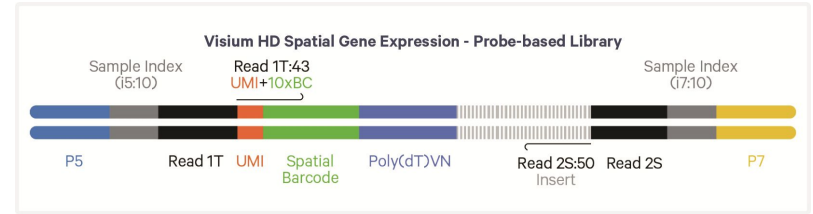


35% de couverture

Visium HD Spatial Gene Expression - Probe-based Library

Paired-end, dual Indexed sequencing

Read 1T: 43 cycles
I7 Index: 10 cycles
I5 Index: 10 cycles
Read 2S: 50 cycles



Mode de séquençage pool 4 banques Visium:

- **1 piste 1,5B Novaseq X plus, PE50**

Pas recommandé de séquençer avec d'autres banques 10X

Profondeur :

3' Gene Expression Library

Parameter	Description
Sequencing Depth	Minimum 20,000 read pairs per cell
Sequencing Type	Paired-end, dual indexing
Sequencing Read	Recommended Number of Cycles
Read 1	28 cycles
I7 Index	10 cycles
I5 Index	10 cycles
Read 2	90 cycles

Spatial Barcode Library

Parameter	Description
Sequencing Depth	Minimum 5,000 read pairs per cell
Sequencing Type	Paired-end, dual indexing
Sequencing Read	Recommended Number of Cycles
Read 1	28 cycles
I7 Index	10 cycles
I5 Index	10 cycles
Read 2	90 cycles <i>(Minimum required Read 2 length for Cell Surface Protein Libraries is 25 bp)</i>

- **Capture d'environ 50 000 noyaux par banques :**
 - **3' GEX Library :** 50K noyaux x 20k reads x 4 banques = 4 milliards de reads nécessaires
 - **Spatial Barcode Library :** 50 K noyaux x 5K reads x 4 banques = 1 milliards de reads nécessaires

⇒ Total : 5 milliards de reads

Mode de séquençage pool 4 banques Trekker :

- **2 piste 25B Novaseq X plus, PE**

Pool des banques GEX + SP avec ratio 5:1

Visium HD (10X Genomics) :

- ▶ Philosophie : développement en interne d'outils d'analyse (Space Ranger) et de visualisation (Loupe).
- ▶ S'appuie également sur des outils externes ([Seurat](#) ou [Scanpy](#)), avec des modules d'interface (e.g., LoupeR).

Trekker (Curio Biosciences) :

- ▶ Philosophie : outils internes limités, mais beaucoup d'outils développés par la communauté scientifique ([STalign](#), [Seurat](#), ...).

Limitations actuelles

Identification de gènes différentiellement exprimés : pas encore d'outil (existe pour Visium v1 et v2, pas encore pour Visium HD).

Identification de gènes différentiellement exprimés : pas encore d'outil (existe pour Visium v1 et v2, pas encore pour Visium HD).

Trekker : résolution spatiale limitée :

- ▶ manip n°1 : 24 923 noyaux ;
- ▶ manip n°2 : 25 596 noyaux ;
- ▶ manip n°3 : 26 498 noyaux ;
- ▶ manip n°4 : 26 211 noyaux.

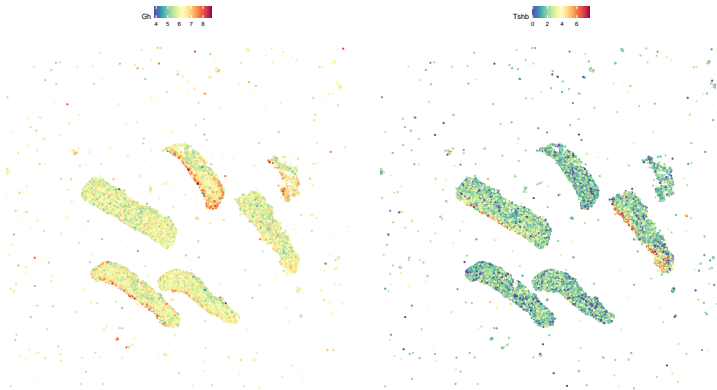
(pour l'ensemble des 4 à 6 coupes d'hypophyse)

Limitations actuelles

45 minutes Inside
– Montpellier
GenomiX Facility

Outils
bio-informatiques
disponibles

Limitations
actuelles



Identification de gènes différentiellement exprimés : pas encore d'outil (existe pour Visium v1 et v2, pas encore pour Visium HD).

Trekker : résolution spatiale limitée :

- ▶ manip n°1 : 24 923 noyaux ;
- ▶ manip n°2 : 25 596 noyaux ;
- ▶ manip n°3 : 26 498 noyaux ;
- ▶ manip n°4 : 26 211 noyaux.

(pour l'ensemble des 4 à 6 coupes d'hypophyse)

Identification de gènes différentiellement exprimés : pas encore d'outil (existe pour Visium v1 et v2, pas encore pour Visium HD).

Trekker : résolution spatiale limitée :

- ▶ manip n°1 : 24 923 noyaux ;
- ▶ manip n°2 : 25 596 noyaux ;
- ▶ manip n°3 : 26 498 noyaux ;
- ▶ manip n°4 : 26 211 noyaux.

(pour l'ensemble des 4 à 6 coupes d'hypophyse)

Visium HD : détection limitée des cellules de petite taille (fibroblastes \neq cellules endocrines).