

E-PREST-55	Fiche Prestation	Date : 27/03/26 Version : 1
	Transcriptomique Spatiale	Page 1/6

La transcriptomique spatiale est une technologie qui combine le profilage à haut débit de l'expression des gènes avec l'information spatiale des cellules dans les tissus ou les organes.

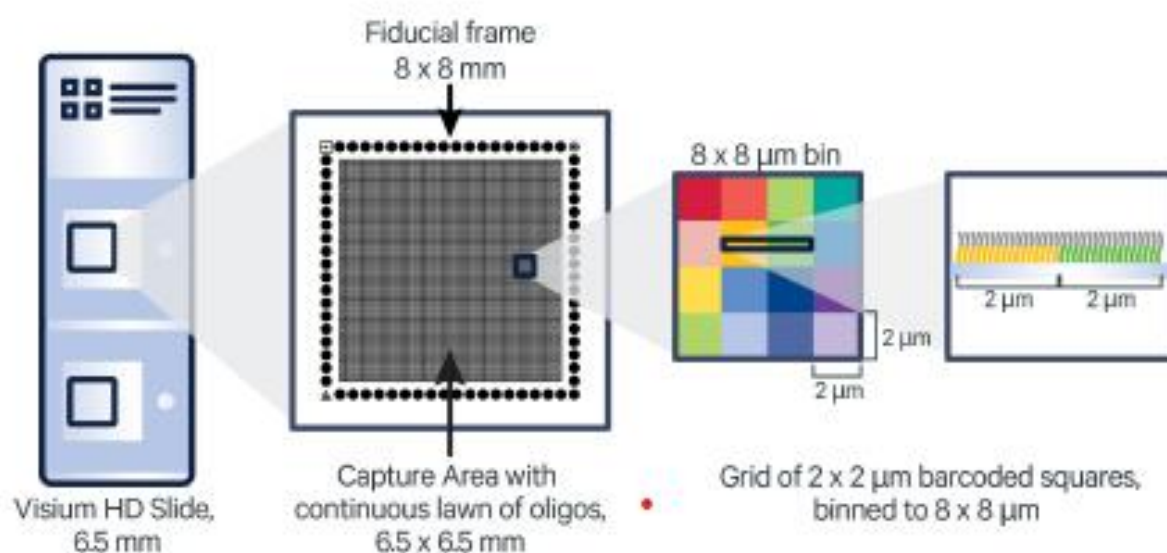
Notre plateau technique propose 1 approche basée sur la technologie Visium HD de 10X Genomics.

Cette méthode peut être appliquée à différents types de préparations tissulaires :

- fresh-frozen
- fixed frozen (FxF)
- FFPE

Elle utilise des sondes (3 paires de sondes spécifiques pour chaque transcrit) compatibles avec l'humain ou la souris.

Une approche basée sur des sondes reconnaissant les ARNs poly-adénylés est également disponible.



E-PREST-55	Fiche Prestation	Date : 27/03/26 Version : 1
	Transcriptomique Spatiale	Page 2/6

Matériel de départ :

La laboratoire demandeur fournira à la plateforme une ou des coupes de tissus disposées sur une lame en suivant les recommandations de 10X Genomics (documentation fournie par le plateau technique).

Un test d'extraction d'ARN devra avoir été réalisé sur une coupe proche de celle étudiée afin d'en évaluer la qualité. Il est également recommandé d'effectuer une coloration DAPI et/ou H&E si d'autres coupes additionnelles sont réalisées afin de vérifier la qualité du tissu.

*Pour les tissus FFPE, l'estimation de la quantité d'ARN peut être réalisée comme test supplémentaire, pour révéler certains échantillons non adaptés malgré des résultats suffisants de DV200 et de morphologie.

	Tissus Frais congelés	Tissus Fixés Congelés	Tissus FFPE
Qualité ARN	RIN > 4	DV200 > 50 %	DV200 > 30 % RNA / cell > 0,4 pg*
Epaisseur coupes	10-20 µm	10-20 µm	3-10 µm

L'équipe de recherche devra également réaliser une coloration et une imagerie H&E (Hématoxylinine et Éosine) ou IF (Immunofluorescence). Après le séquençage, ces images histologiques (H&E/IF) seront alignées avec les données transcriptomiques pour une analyse spatiale plus précise.

Les lames apportées par le client doivent être correctement identifiées et correspondre aux informations notées sur la fiche échantillon dont une version vierge sera envoyée par le plateau technique.

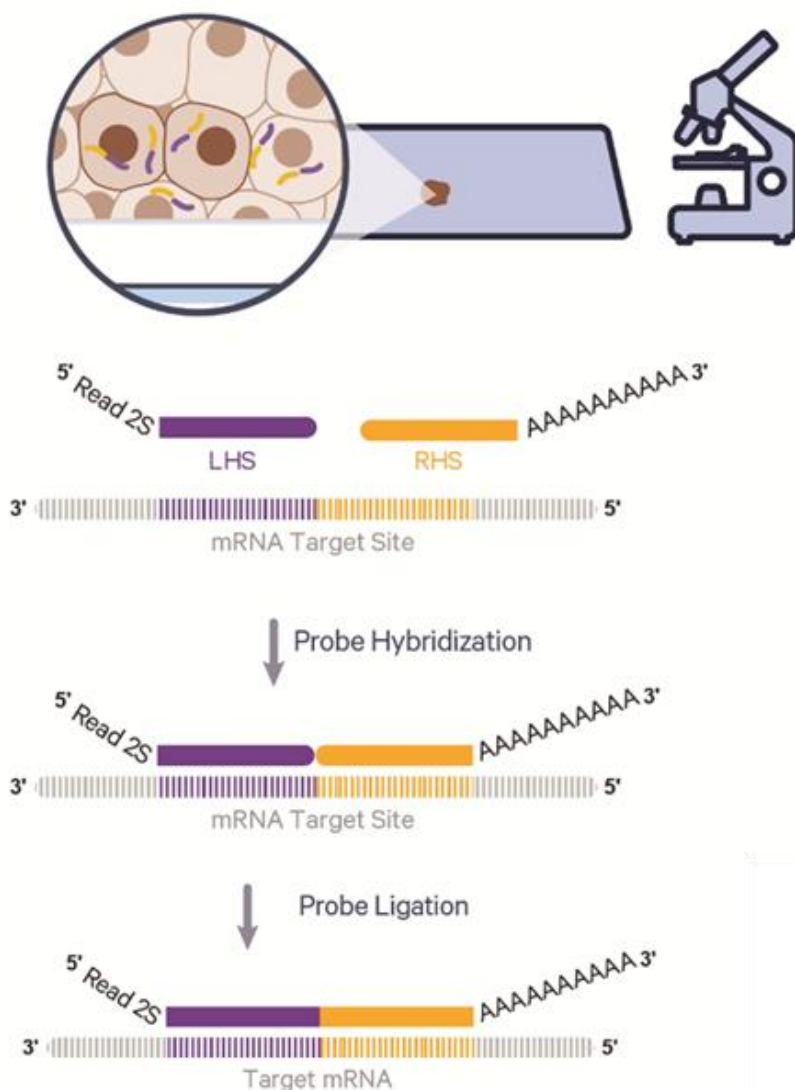
E-PREST-55	Fiche Prestation	Date : 27/03/26 Version : 1
	Transcriptomique Spatiale	Page 3/6

Prestation proposée :

Etape 1 - Hybridation et ligation des sondes

Des paires de sondes spécifiques pour chaque gène sont ajoutées aux tissus déparaffinés, décolorés et décrosslinkés. Ces paires de sondes vont s'hybrider à leurs ARNm cibles.

Après hybridation, une ligase est ajoutée pour créer une jonction entre les paires de sondes qui se sont hybridées sur l'ARNm



E-PREST-55	Fiche Prestation	Date : 27/03/26 Version : 1
	Transcriptomique Spatiale	Page 4/6

Étape 2 - Libération et extension des sondes

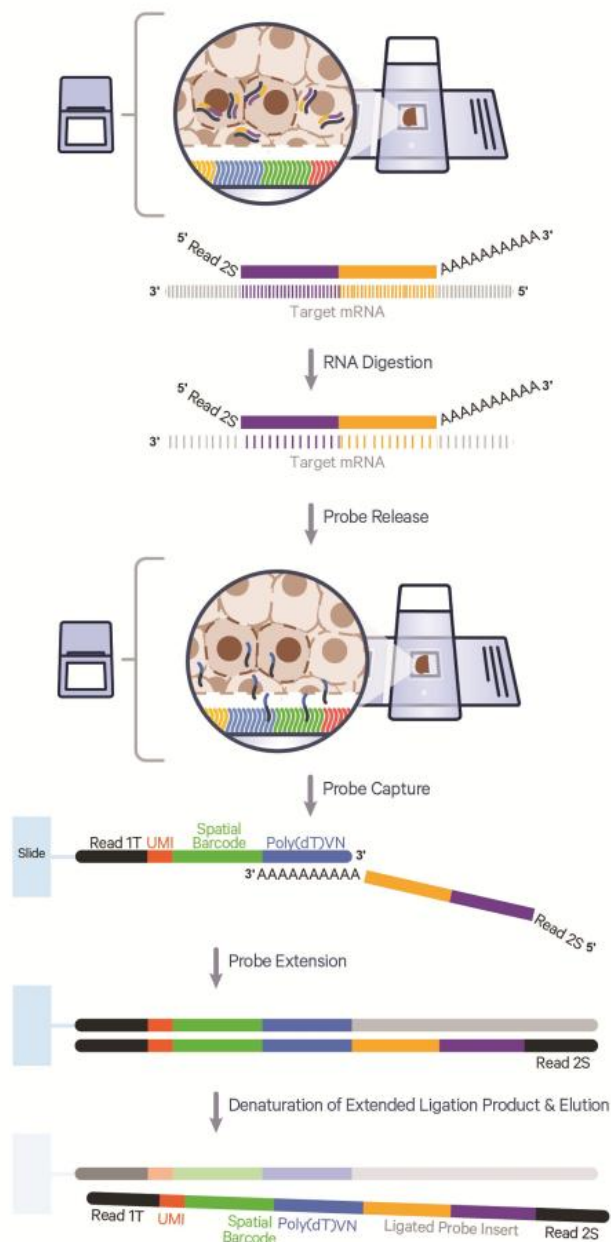
La libération et la capture des sondes s'effectuent dans l'instrument Visium CytAssist.



Les sondes liguées simple brin sont libérées du tissu grâce à un traitement à la RNase.

Elles sont ensuite capturées sur la lame Visium par les oligonucléotides contenant un barcode spatial.

Une fois les sondes capturées, les lames peuvent être retirées de l'instrument.



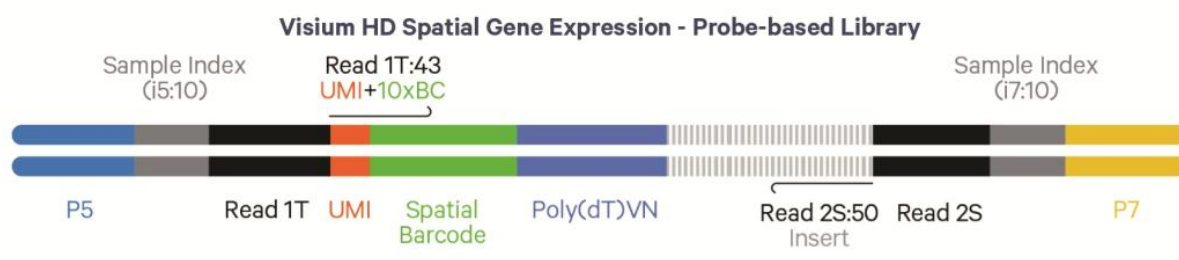
E-PREST-55	Fiche Prestation	Date : 27/03/26 Version : 1
	Transcriptomique Spatiale	Page 5/6

Etape 3 - Pré-amplification et construction de la banque

Les séquences liguées et barcodées sont amplifiées par PCR.

La construction de la banque se termine par une seconde amplification PCR permettant de compléter les adaptateurs Illumina et d'introduire des index.

La structure finale de la banque est la suivante :



Etape 4 - Séquençage

Le séquençage est réalisé sur un Novaseq XP+ (Illumina) par la méthode de Sequence By Synthesis (SBS).

Pour obtenir une bonne profondeur de séquençage, 10X Genomics recommande :

	Tissus Frais congelés	Tissus Fixés Congelés	Tissus FFPE
6,5 mm x 6,5 mm	700 M de séquences	500 M de séquences	275 M de séquences
11 mm x 11 mm	2.1 B de séquences	1.5 B de séquences	825 M de séquences

Le mode de séquençage est spécifique à la construction des banques Visium HD Gene Expression (10X Genomics)

Les banques sont séquencées en paired-end avec le format suivant :

- Le Read 1 : 43nt. Cette lecture correspond à l'UMI et au barcode spatial.
- Le Read 2 : 50nt. Cette lecture correspond au produit de ligation des sondes.
- Les index i5 et i7 sont lus avec des reads spécifiques et sont codés sur 10nt.

E-PREST-55	Fiche Prestation	Date : 27/03/26 Version : 1
	Transcriptomique Spatiale	Page 6/6

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 :

Efficacité de la fabrication des banques	
Taille moyenne *	250 pb $\pm$ 50 pb
Concentration	10 nM

* en incluant les adaptateurs

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 login et mot de passe) : les différentes étapes du traitement seront validées par l'opérateur de séquençage au fur et à mesure de l'avancement.

Dans la mesure où le plateau technique constate 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 banques sont conservées 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.

De la même façon, nous nous engageons à conserver les données issues du Séquençage uniquement jusqu'à la fin de l'analyse.