

Journal

TGML

Transcriptomic and Genomic
Marseille Luminy

La plateforme « Transcriptomique et Génomique Marseille-Luminy » est intégrée au laboratoire TAGC, unité mixte de recherche Inserm/AMU et est une composante de l'infrastructure distribuée France Génomique.

Accessible aux équipes de recherche publique françaises et étrangères, ainsi qu'aux industriels, elle donne accès à une large palette d'outils expérimentaux et bio-informatiques pour l'étude du transcriptome et de la génomique fonctionnelle. L'accès à ces services se fait soit en prestation de service soit en collaboration sur la base d'une tarification adaptée et validée par l'Inserm. Les ingénieurs de la plateforme assurent la construction des librairies, le séquençage et les analyses de données (primaires et secondaires), plus marginalement le traitement et l'analyse de puces à ADN.

Depuis 2 ans, la plateforme propose le séquençage de cellules uniques avec la technologie Chromium Controller de la société 10x Genomics. De nombreux projets ont déjà été réalisés en prestation et/ou collaboration.



L'ensemble de l'activité de la plateforme est certifiée ISO 9001:2015 et NFX 50-900:2016. Le système de management de la qualité concerne : L'Expertise, la Recherche et le Développement en génomique et bio-informatique dans les sciences du vivant. Après évaluation interne et externe le renouvellement de cette certification a été obtenue en décembre 2020 pour une durée de 3 ans.



PLATEFORME
TECHNOLOGIQUE
AIX-MARSEILLE

Le label « Plateforme technologique Aix-Marseille » obtenu en 2016 a été renouvelé en 2019 pour une durée de trois ans.

Ce numéro est pour nous l'occasion de dresser un bilan de l'année 2020 et de présenter les perspectives pour l'année 2021.

Nouveautés

- ♦ **Denis Puthier (maître de conférences) a rejoint la plateforme en tant que codirecteur.**
Etant donné ses compétences en génomique et bioinformatique, il viendra renforcer l'expertise de nos ingénieurs dans le développement des workflows et l'analyse de vos données.
- ♦ **La plateforme a intégré l'institut Marseillais pour les Maladies Rares (MarMaRa).**
- ♦ **RNA-seq faible quantité (à partir de 25ng).**
Le TGML a validé l'utilisation du Kit Illumina Stranded mRNA Prep Ligation et propose la réalisation de prestations RNA-seq à partir de 25ng d'ARN.
- ♦ **En cours :**
Le TGML répond actuellement à divers appels d'offres afin de s'équiper d'un nouveau séquenceur permettant de faire face à l'augmentation de la demande.

Prestations 2020

La plateforme est ouverte à l'ensemble de la communauté scientifique issue du monde académique ou privée (Fig. 1). Le TGML est le collaborateur privilégié en génomique de plusieurs laboratoires **locaux** (TAGC, CRCM, INT, NICN, Inmed, AFMB, IMBE....), **nationaux** (IAB, Grenoble ; IGMM & INRA, Montpellier; UMR_S 1130, Paris,) et **internationaux** (IICBA, Mexico ; Rajamangala University of Technology Tawan-OK, Chonburi, Thailand....). Concernant le secteur privé, le TGML travaille avec différents acteurs locaux comme GenXmap, OZ BioSCIENCES, Advanced Biodesign.

Les principales prestations offertes sont les études du transcriptome (scRNA-seq, RNA-seq, miRNA-seq,..), du génome (DNA-seq : SNPs, small/large InDels, full exome, séquençage ciblé après capture,...) et de l'épigénome (ChIP-seq, Mnase-seq, FAIRE-seq,...). Dans certains cas, les librairies peuvent être produites par le collaborateur et séquencées sur la plateforme. (Fig. 2 a & b).

Les prestations comprennent également des analyses bioinformatiques utilisant des workflows de routine développés en interne. Des analyses dédiées sont réalisées au cas par cas. On note pour cette année, une augmentation des demandes en scRNA-seq et *cell-hashing* (13%) qui est appelée à évoluer fortement. (Fig.2 b).

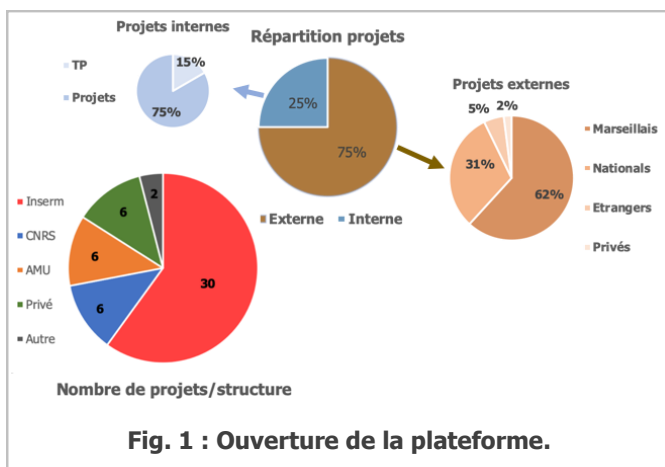


Fig. 1 : Ouverture de la plateforme.

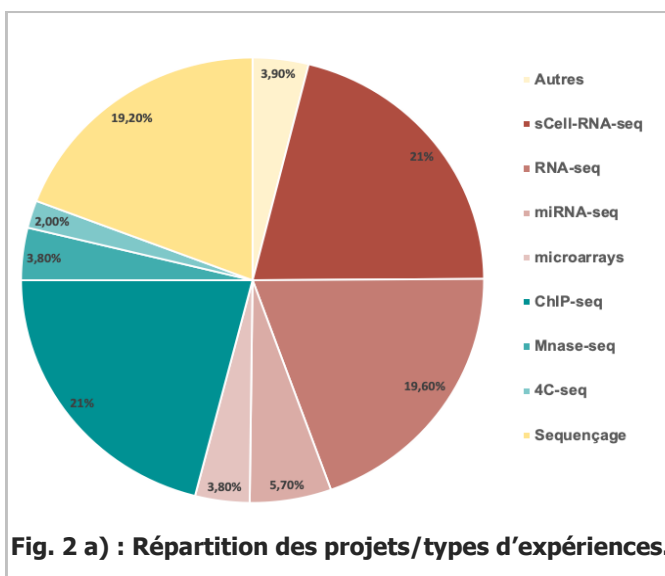


Fig. 2 a) : Répartition des projets/types d'expériences.

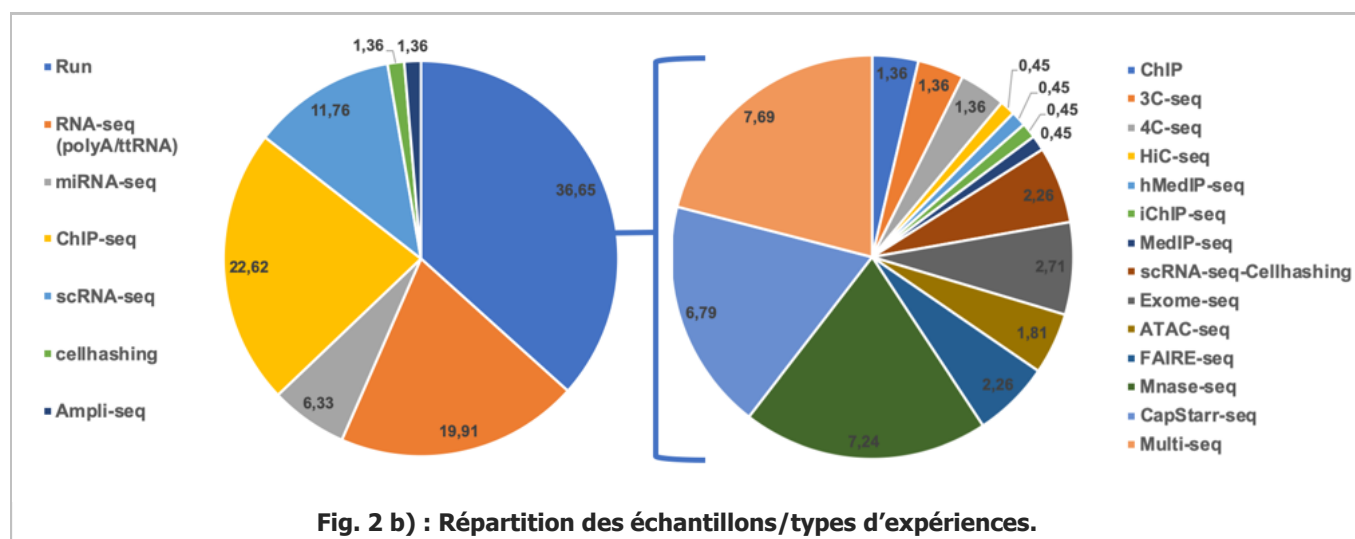


Fig. 2 b) : Répartition des échantillons/types d'expériences.

Recherche & Développement

Un plan stratégique trisannuel glissant permet de planifier les demandes de financements et les développements technologiques à mettre en place. Les développements sont motivés par, (i) la demande client, (ii) une veille scientifique permettant aux chercheurs seniors et ingénieurs de connaître l'évolution du domaine, (iii) des réunions régulières avec les chercheurs associés permettant le partage d'informations, (iiii) les ateliers et congrès de France Génomique qui permettent de présenter les avantages et les inconvénients de différentes approches et/ou instruments.

Une des évolutions majeures de ces dernières années est l'analyse d'échantillons biologiques au niveau de la cellule unique.

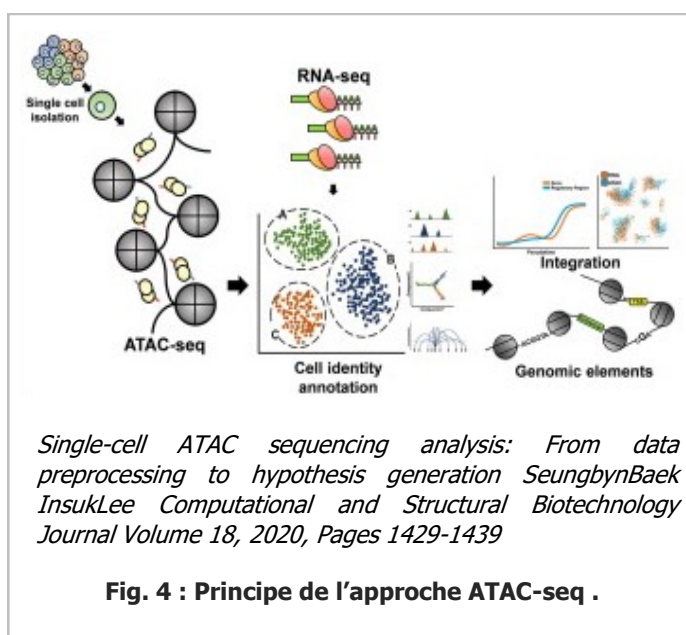
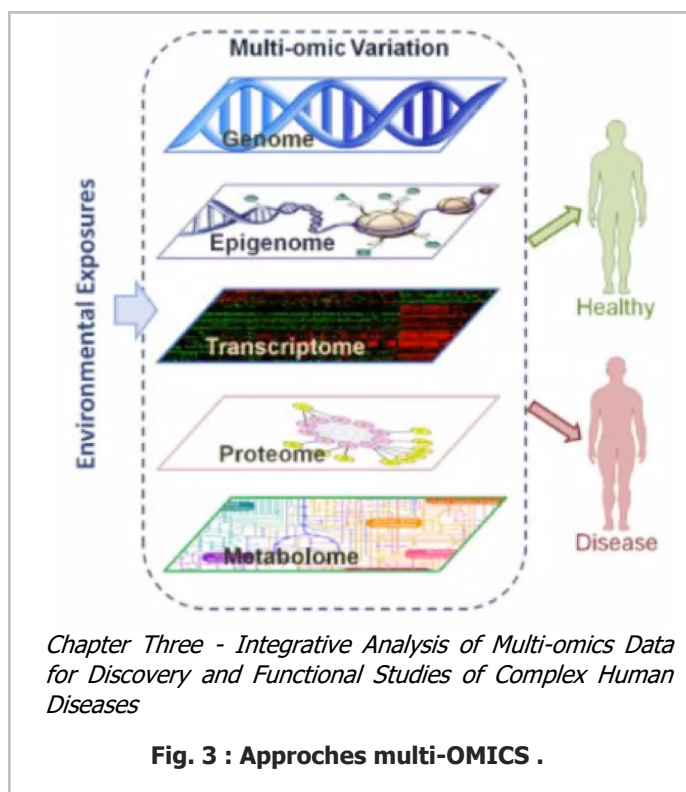
Cette technologie révolutionne l'analyse des échantillons biologiques en permettant l'analyse de l'hétérogénéité cellulaire et a de très nombreuses applications dans les domaines fondamentaux et appliqués notamment de la biologie, de la médecine, de l'agronomie ou de l'environnement.

Elle se décline aujourd'hui dans diverses méthodes (e.g. scRNA-seq, scATAC-seq, sc-HiC...) qui peu à peu se conjuguent vers des approches dites de multi-OMICS (e.g. analyse conjointe du transcriptome et de l'épigénome). Les approches à l'échelle de l'échantillon (*bulk*) sont remplacées au bénéfice des méthodes de cellules uniques (*single-cell*) largement adoptées par les laboratoires et en passe de devenir des approches standards d'analyse.

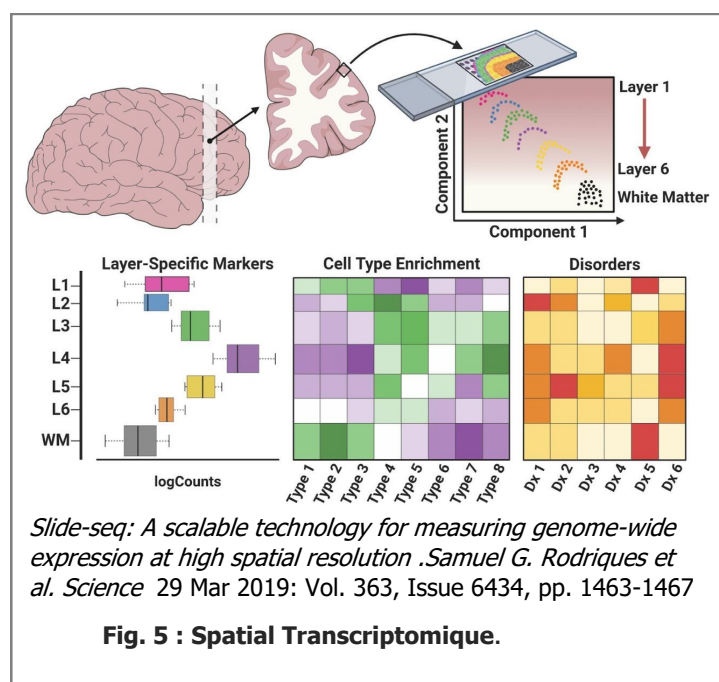
La plateforme développe actuellement plusieurs approches.

Nous débutons un plan de développement visant à implémenter **les méthodes de cellules uniques basées sur les noyaux (single-nuclei)** qui apportent une flexibilité importante pour d'une part des expériences avec des cellules fragiles, d'autre part pour les approches de **type multi-omics** e.g. snRNA-seq et ATAC-seq simultanés).

Un autre développement concerne l'utilisation de cellules fixées dans le but de supprimer les biais dus aux stress cellulaires lors de décongelations pour les expériences de cellules uniques.



En parallèle de l'analyse en cellule unique, **la transcriptomique spatiale** (Fig 5) devient une méthode complémentaire pour résoudre la complexité des organes ou des tissus. Suite à l'obtention d'un financement Emergence (Cancéropole PACA) dont D. Puthier est partenaire, le TGML s'implique aussi dans un projet de transcriptomique spatiale avec la technologie Visium (10x Genomics) en collaboration avec Magali Irla (CIML) et A. Sergé (LAI). Ce projet intitulé "Spatial mapping of gene expression to decipher the thymic crosstalk upon T-cell Acute Lymphoblastic Leukemia development" vise à mieux comprendre les modalités du développement de leucémies aiguës lymphocytaires T dans le thymus et les interactions existantes avec le microenvironnement stromal.



Transfert technologique et formation

La plateforme est très impliquée dans l'enseignement. Dès 2014, via un financement CoreBio PACA, elle a proposé des travaux pratiques de séquençage aux étudiants de Master 2 (Biologie Structurale et Génomique) et de Polytech (4ème année).

Elle propose aussi des enseignements théoriques dans différents masters (e.g. BSG, Polytech, Master Biologie Santé, Génomique et Protéomique Fonctionnelles à Beyrouth).

Concernant la formation pour les chercheurs et jeunes chercheurs, Denis Puthier est membre permanent de l'équipe pédagogique de l'école de bioinformatique AVIESAN-IFB (EBAI). Tous les ans, il s'implique dans la formation des biologistes à la bioinformatique pour le traitement des données génomiques. Ce sont plusieurs centaines de chercheurs qui ont été formés depuis 2013. En 2021 une seconde session est proposée pour un niveau supérieur (II).

A l'échelle internationale le TGML s'implique dans de nombreuses collaborations autour de la recherche et de la formation (Mexique, Algérie, Thaïlande, Brésil, Liban...).

Valorisation et visibilité

La plateforme valorise ses résultats à travers la publication de travaux dans des journaux internationaux à comités de lecture. Depuis 2015 le nombre moyen de publications est de 5,6 par an. Il s'agit essentiellement de travaux de grande qualité qui sont publiés dans des revues à impact factor moyen de 6,2 (min 1.94; max 27,6). Par ailleurs, plusieurs actions permettent de valoriser l'activité de la plateforme en augmentant la visibilité. Ainsi, en plus de notre site web (<http://bit.ly/tgml-tagc>) l'activité de notre plateforme est visible sur le site d'IBISA (<https://www.ibisa.net/>), de France génomique (<https://www.france-genomique.org/>), d'Aix-Marseille Université (les plateformes technologiques d'Aix Marseille Université, (<http://bit.ly/tgml-amu>) ainsi que sur le site des infrastructures de l'Inserm (<https://infrastructures.inserm.fr/>). Les contenus sont régulièrement actualisés.

Publications 2020

*RNA-Guided Genomic Localization of H2A.L.2 Histone Variant. Naghmeh Hoghoughi, Barral S, Curtet S, Chuffart F, Charbonnier G, **Puthier D**, Buchou T, Rousseaux S, Khochbin S. Cells. 2020 Feb 18;9(2):474. doi: 10.3390/cells9020474.*

*Prenatal maternal vitamin D deficiency sex-dependently programs adipose tissue metabolism and energy homeostasis in offspring. M. Seipelt E, Tourniaire F, Couturier C, Astier J, **Loriod B**, **Vachon H**, Pucéat M, Mounien L, Landrier JF. The faseb Journal 2020. PMID: 33136167*

*Response of Downy Oak (Quercus pubescens Willd.) to Climate Change: Transcriptome Assembly, Differential Gene Analysis and Targeted Metabolomics. Mevy JP, **Loriod B**, Liu X, Corre E, Torres M, Büttner M, Haguenauer A, Reiter IM, Fernandez C and Gauquelin T. Plants 2020, 9(9), 1149 ; PMID: 32899727*

*IL-12 Signaling Contributes to the Reprogramming of Neonatal CD8 + T Cells. Darelly Y Gutiérrez-Reyna, Alejandra Cedillo-Baños, A Kempis-Calanis L, Ramírez-Pliego O, **Bargier L**, **Puthier D**, Abad-Flores D, Chollier M, Thieffry D, Medina-Rivera A, Spicuglia S, Santana M. Frontiers in Immunology. PMID: 32670280*

*Genomic trajectories to fluoroquinolone resistance in Francisella tularensis subsp. holarctica live vaccine strain. Vivien Suter, Aurélie Hennebique, Lopez F, **Fernandez N**, Schneider D, Maurina M. "International Journal of Antimicrobial Agents. Volume 56, Issue 6, December 2020, 106153. PMID: 29760140*

*PML hyposumoylation is responsible for the resistance of pancreatic cancer. Swayden M, Alzeeb G, Masoud R, Berthois Y, Audebert S, Camoin L, **Hannouche L**, **Vachon H**, Gayet O, Bigonnet M, Roques J, Silvy F, Carrier A, Dusetti N, Iovanna JL, Soubeyran P. The FASEB journal. PMID: 31557059*

*Integration of high-throughput reporter assays identify a critical enhancer of the Ikzf1 gene. Alomairi J, Molitor AM, Sadouni N, Hussain S, Torres M, Saadi W, Dao L, Charbonnier G, Santiago-Algarra D, Andrau JC, **Puthier D**, Sexton T, Spicuglia S. PLoS One. 2020 May 26;15(5):e0233191. doi: 10.1371/journal.pone.0233191.*

*Blueprint of human thymopoiesis reveals molecular mechanisms of stage-specific TCR enhancer activation. Cieslak A, Charbonnier G, Tesio M, Mathieu EL, Belhocine M, Touzart A, Smith C, Hypolite G, Andrieu G, Martens J, Janssen-Megens E, Gut M, Gut I, Boissel N, Petit A, **Puthier D**, Macintyre E, Stunnenberg H, Spicuglia S, Asnafi V. J Exp Med. 2020 Sep 7;217(9):e20192360. doi: 10.1084/jem.20192360.*

Contacts

Adresse: Parc Scientifique de Luminy, Bâtiment TPR2, case 928
163 Avenue de Luminy
13288 MARSEILLE cedex 09

Téléphone : 04.91.82.87.13 / 06.17.25.70.34

Messagerie : tgml.tagc@inserm.fr

Direction TAGC: Pascal Rihet

Représentant de la direction sur la plateforme: Christophe Chevillard

Responsables plateforme: Béatrice Loriod & Denis Puthier

Personnels : Lisa Bargier, Charlyne Gard, Sebastien Nin, Myriam Ramadour, Hortense Vachon

Retrouvez-nous sur le web !

<https://tagc.univ-amu.fr/en/resources/>



transcriptomic-genomic-platform-marseille-luminy

@TGML_TAGC

