

**REUNION CSU « CRB GADIE »  
le 20 septembre 2007**

*INRA- 147, rue de l'Université – Paris (salle 628)*

**10h00** : Introduction

**10h15-11h45**

➤ **Bilan d'activité**

*(K. Hugot)*

**11h45 -12h15**

➤ **Présentation des travaux d'un utilisateur du CRB : « Développement de ressources biologiques moléculaires et fonctionnelles chez la lamproie et la roussette »**

*(S. Mazan)*

Développement et Evolution des vertébrés  
UMR 6218- Immunologie et embryologie mol.  
Institut de transgénése - ORLEANS

**12h15 -13h00**

➤ **Proposition de projet de recherche pour le CRB « Puce Pig Génomique sur une région pilote »**

*(P. Chardon)*

**14h00 -16h00**

➤ **Avenir des activités du CRB.**

**Débat incluant un debriefing des rencontres du 19 septembre avec les fabricants de puces à ADN.**

Patrick Herpin, président du CSU

Corinne Cotinot ; Francois.Lefevre ; Michel.Duclos ; Gwenola Tossier ; François Hatey ; Marie Damon ; Madeleine Douaire ; Sophie Pollet ; Patrice Martin ; François Moreews ; Frederic Devaux (ENS) ; Didier Boichard ; Gérard Frelat ; Patrick Chardon ; Diane Esquerré ; Karine Hugot

Invités

Sylvie Mazan

Excusés

Philippe Monget ; Yann Guiguen ; Jean Yves Coppé (Pasteur)

# Compte Rendu

## Introduction

### Bilan d'activité des 6 derniers mois. (Karine Hugot)

#### **Mouvements de personnels**

- Sylvain Marthey a été recruté sur un poste IE INRA en tant qu'ingénieur en développement et déploiement d'applications. Il prendra ses fonctions en novembre 2007.
- Hadja Eldjouzi terminera son CDD AI (contrat EADGENE) en novembre 2007. Son activité est orientée sur la production de puces à oligonucléotides poulet mais aussi sur la puce porc produite à partir du set d'oligonucléotides du DIAS.
- Yu Gao (Postdoc EADGENE) a participé 6 mois à la mise en place des contrôles qualité des puces et travaille en fort lien avec le CRB GADIE sur la puce à oligonucléotides SLA\_réponse immune\_générique.
- Le congé parental de Céline Ducroix-Crépy sera compensé par un CDD AJT de 6 mois. Comme il n'est pas possible de former une personne au pilotage de robots dans ce laps de temps, le nouveau CDD sera affecté à l'entretien des collections.

#### **Ressources biologiques**

Les collections de clones ont peu évolué depuis le dernier CSU.

Le set d'oligonucléotides développé par le DIAS (26K) est arrivé au CRB GADIE (en juin). Des tests de resuspension et de dépôt sur lame de verre sont en cours.

#### **Ressources Matérielles**

- Le nouveau robot spotteur QArray 2 (Genetix) doit être livré en octobre. Le choix de ce robot a été fait en fonction de critères techniques (vitesse, capacité, système de nettoyage des aiguilles,...) et d'évolutivité. Ce robot remplacera le Chipwriter (Virtek) peu fiable. L'ancien matériel sera affecté à des programmes plus légers, comme des projets à façon.
- L'AIP séquence INRA a permis d'équiper une salle isolée avec une hotte bactériologique pour effectuer les tests phages sur les collections de clones. De plus, des portes ont été commandées pour équiper les différentes pièces existantes et permettre une meilleure isolation.

#### **Assurance Qualité.**

Le deuxième audit de suivi concernant la certification ISO 9001 : 2000 acquise en 2005 a été réalisé en juin 2007. Aucune non-conformité n'a été relevée et la certification a été reconduite.

Ce cycle de certification de 3 ans initié en 2005 se terminera l'année prochaine. Un nouveau cycle de certification débutera en juin 2008.

Après le départ de l'animatrice qualité Sonia Pollenne, Annie Chastellier a repris cette fonction. Et pour mieux appréhender la norme ISO 9001 :2000, Karine Hugot et Annie Chastellier ont suivi la formation AFNOR « Lecture pas à pas de la norme ». Karine Hugot a envisagé de publier le système de management de la qualité développé au CRB GADIE, en coordination avec la mission qualité de l'INRA et avec l'AFNOR.

## Budget

Le budget fonctionnement 2007 est pratiquement à l'équilibre. Le total des ressources, y compris la dotation du département DGA, de l'aide DSAPA, de l'AIP séquence et de l'aide EADGENE est de 135K€ dont 70K€ de facturation ; celui des dépenses est de 133 K€.

Des précisions ont été apportées à propos de la TVA rémanente ajoutée aux frais de participation. Concernant les travaux effectués en 2005, la TVA rémanente ne sera pas facturée aux utilisateurs, en revanche elle le sera pour tous ceux effectués en 2007. Pour les travaux de l'année 2006, des discussions doivent être engagées au cas par cas avec les différents utilisateurs.

Les prix hors taxe des différentes puces à ADN restent identiques à ceux de l'année 2006. Les prix TTC sont donc de :

Nature de la puce	Participationaux frais / support	
	HT	TTC
<b>Puce générique Truite 2ème génération</b> (9 216 caractères sur micromembranes) 15€/membrane ayant été déjà versés	35 €	41,10 €
<b>Puce générique Porc 2ème génération</b> (9 216 caractères sur micromembranes)	52 €	61,10 €
<b>Puce oligonucléotides Poulet</b> (20 736 caractères sur lames de verre)	53 €	62,20 €
<b>Puce oligonucléotides Bovin</b> (22 272 caractères sur lames de verre)	59 €	69,30 €
<b>Puce oligonucléotides Porc SLA/RI/générique porc</b> (22 272 caractères sur lames de verre)	53 €	62,20 €

Fin 2006, des avances sur travaux à hauteur de 10 000 € ont été faites pour financer l'achat du jeu d'oligo 13K porc d'Operon. Les tests ont été réalisés et ce set a été resuspendu et spotté. L'équipe utilisatrice qui avait passé commande de 300 lames est actuellement dans l'incapacité d'utiliser ces lames sur le plateau technique de Rennes (voir plus bas). Le problème des frais des deux équipes (achat du set et tests et spotting de 150 lames) se pose. Il a été décidé de chercher en premier lieu d'autres équipes susceptibles d'être intéressées par ces puces pour rentabiliser le set d'oligo.

## Bilan d'Activité. (Karine Hugot)

Le bilan est présenté en regard des décisions du dernier CSU de 2007.

### Gestion de collections :

- envoi de 2800 clones d'ADNc de truite pour séquençage pleine longueur au Genoscope
- envoi de 100 000 clones BAC de truite pour séquençage des extrémités au Genoscope
- envoi d'une cinquantaine de clones, dont 15 ont été sélectionnés par criblage
- Temps passé à l'entretien des collections (tests phages et copies) : 3 mois par la personne recrutée en remplacement de Céline Ducroix-Crépy en congé maternité.

### **Transcriptome :**

- 638 puces oligo poulet distribuées, 89 puces disponibles
- 254 puces oligo bovin distribuées, 150 puces disponibles
- 11 puces oligo porc 13K distribuées, 120 puces disponibles
- 20 puces oligo SLA/réponse immunitaire/générique porc distribuées
- 10 micromembranes porc distribuées depuis le dernier CSU
- 360 micromembranes truite distribuées depuis le dernier CSU
- En cours : tests de resuspension et de spotting du jeu d'oligonucléotides porc développé par le DIAS dans le cadre d'EADGENE.

Une discussion s'engage sur l'utilisation des lames produites au CRB GADIE.

Les utilisateurs sont globalement satisfaits par les puces avec leurs différents protocoles d'hybridation (hybridation manuelle dans les laboratoires de Rima Zoorob à Villejuif, de Michel Duclos à Tours, de Patrick Chardon et de Gilles Charpigny à Jouy en Josas ; avec le Ventana DISCOVERY™ System sur les plateformes de Toulouse et de Clermont-Ferrand, avec le four Agilent de PICT à Jouy en Joas). Tous ces protocoles ont nécessité une mise au point.

Il reste un problème important pour les utilisateurs qui hybrident les lames du CRB GADIE avec la station d'hybridation Ventana du plateau technique de Rennes. En effet, malgré les différents tests effectués par le plateau technique de SCRIBE les résultats d'hybridation ne sont pas concluants

Le comité souligne qu'il est important de trouver une solution pour les utilisateurs basés à Rennes. A la demande de Madeleine Douaire, il a été décidé que le CRB GADIE organiserait des rencontres avec les différents plateaux techniques pour aider à l'utilisation des lames.

Michel Duclos et Frédéric Devaux signalent qu'il est important de définir au préalable des critères objectifs de qualité des lames.

Des besoins concernant l'annotation des puces fabriquées au CRB ont été soulevés. François Moreews signale que ce travail avait déjà été fait pour la puce 20K poulet à la demande d'utilisateurs. Les procédures développées consistent en :

- 1- Mise en évidence des oligo similaires à plusieurs séquences de transcrit poulet (contigs).
- 2- Recherche de similarité des oligos sur swissport
- 3- Recherche de similarité des oligos sur les transcrits Ensembl poulet
- 4- À partir des meilleurs hits, extractions des orthologues humains définis par Ensembl
- 5- Conversion des noms d'orthologues Ensembl en noms HUGO.
- 6- À partir noms HUGO, recherche des identifiants KEGG (enzyme, gene, pathways)
- 7- Annotation Gene Ontologie.

A la demande des utilisateurs, ces procédures mises en place pourront être automatisées et généralisées aux différentes puces, lorsque les séquences des génomes sont disponibles.

### **Prévision des travaux fin 2007 / 2008**

- **ANR Genanimal : SeasonClock** : Pour la première fois, le CRB GADIE a participé en temps que partenaire à une demande de financement ANR Genanimal avec Martine Migaud (INRA Tours). Ce projet a pour objectif l'identification des gènes impliqués dans

la genèse du rythme circannuel de reproduction chez deux espèces de mammifères saisonnés, le mouton et le hamster, via l'utilisation de puces à oligonucléotides. Cette demande a été classée sur liste complémentaire.

- **ANR PFTV : GenomINnet** : Ce projet a été déposé en partenariat avec le CNRGV et sera examiné mi octobre. Les objectifs de ce projet sont :
  - d'augmenter la qualité et la standardisation des CRB de génomique
  - d'améliorer la traçabilité des processus et des données associées au matériel biologique
  - de créer une copie sur site miroir pour les collections les plus importantes
  - d'appliquer tous les contrôles qualité sur l'ensemble des collections
  - de maintenir la certification ISO 9001
  - de renforcer la collaboration entre le CNRGV et le CRB GADIE
- **Production et mise à disposition de puces à oligonucléotides bovines (22K)**
- **Production et mise à disposition de puces à oligonucléotides poulet (20K)**
- **Production et mise à disposition de puces à oligonucléotides porcines (13K)**
- **Eadgene : production et mise à disposition de puces poulet (20K) et porc (DIAS, 25K)**
- **Immopig : production et mise à disposition de puces à oligonucléotides SLA/Réponse immunitaire**
- **Développement de ressources biologiques moléculaires et fonctionnelles chez la lamproie et la roussette (avec S. Mazan)**
- **Développement du projet de recherche : « Conception d'une puce génomique porcine dans la région pilote du CMH ».**

#### Présentation des nouveaux projets :

➤ **Sylvie Mazan : « Développement de ressources biologiques moléculaires et fonctionnelles chez la lamproie et la roussette ».**

➤ **Patrick Chardon : « Développement, production et utilisation d'une puce génomique porcine dans la région pilote du CMH dans l'objectif de réaliser une étude systématique des transcrits codants et non-codants de cette région chez le porc ».**

Dans une première version, la puce développée sera constituée de plasmides couvrant le complexe génétique et la région centromérique du chromosome 7. Ce travail impliquera l'équipe immunogénétique du LREG (laboratoire d'appui du CRB GADIE) et en particulier Mark Stam, bio-informaticien actuellement en post-doctorat sur un financement ministère,

et Yu Gao, en post-doctorat sur un financement DGA. Dans un deuxième temps nous auront recours à une puce tiling array construite avec des oligonucléotides

### **Avenir des activités du CRB.**

#### **Débat incluant un bilan des rencontres du 19 septembre avec les fabricants de puces à ADN.**

De solutions commerciales pour l'étude du génome et du transcriptome de nos espèces d'élevage ont récemment été mises sur le marché. Une journée « rencontre avec les fabricants de puces à ADN » a été organisée par le CRB GADIE. Cette journée a été proposée pour initier la discussion sur le passage à l'utilisation de ces outils commerciaux dans notre communauté. Elle a permis de prendre contact avec les fournisseurs et de connaître les solutions proposées par chacun. Un compte rendu de cette journée sera diffusé très rapidement et disponible sur demande.

Didier Boichard souligne que la généralisation des outils commerciaux a été préconisée lors des directoriales 2007.

Au cours du débat concernant l'avenir du CRB, est apparue incontournable l'évolution à moyen terme de l'activité de production de puces à ADN du CRB à cause de l'arrivée des ces nouveaux outils commerciaux. Il a été décidé que le CRB devait continuer à jouer un rôle central dans la réflexion sur l'utilisation des outils commerciaux et devait assurer la coordination intra et inter espèces. Des réunions seront organisées par le CRB avec tous les partenaires pour envisager les différentes possibilités et établir une stratégie concertée de toute la communauté.

De plus, il a été proposé que le CRB s'oriente à moyen terme vers l'utilisation de ces outils commerciaux et que quelques projets soient réalisés. Ainsi le CRB pourrait continuer à développer son expertise dans le domaine de la transcriptomique et assurerait une activité de veille technologique et de conseil.