

- > Répondre aux enjeux environnements et santé : des recherches ambitieuses portées par les évolutions technologiques des NGS

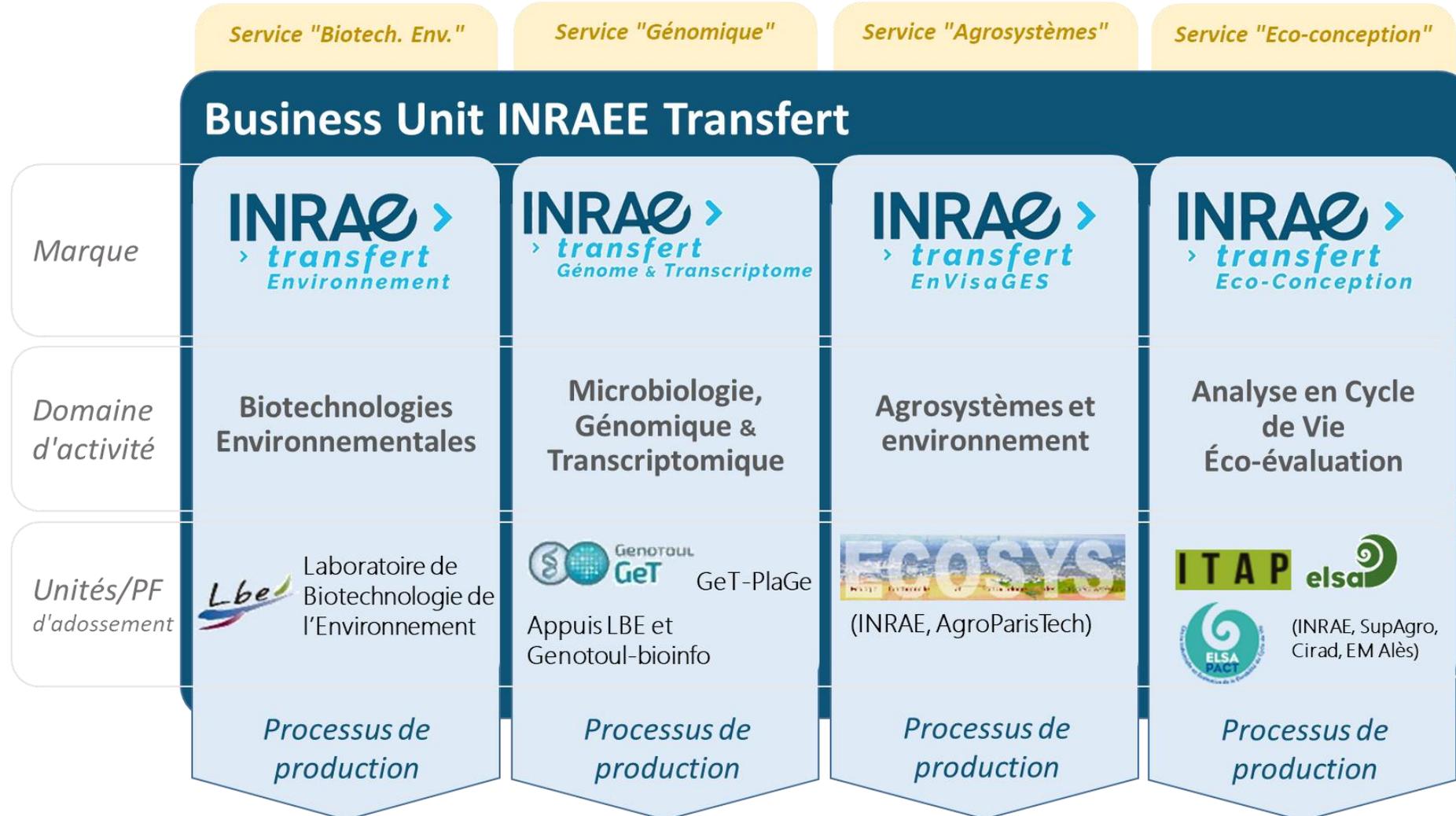
BU INRAE TRANSFERT – Service GeT IT Génomique et Transcriptomique

**Marina Moletta-Denat**



# INRAE Transfert – Business Unit en bref

4 services de prestations basées sur les savoir-faire INRAE



5

# Des conseils et des applications innovantes en génomique

Préparation des échantillons, Extraction des acides nucléiques

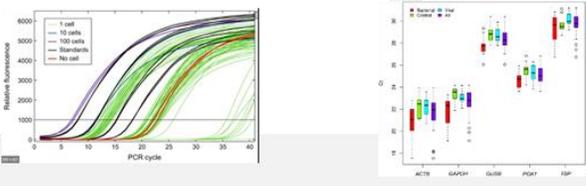
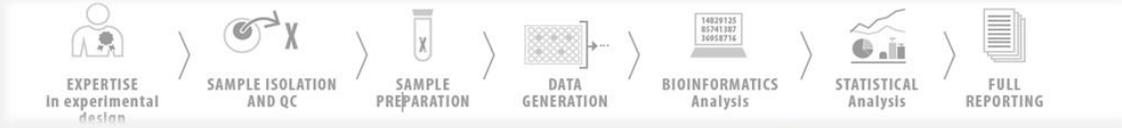


Concentration en microorganismes  
Détection/quantification d'événements rares  
Analyse d'expression

Fuidigm Biomark 

Biorad digital droplet PCR 

Concentration d'une gène ou d'un groupe microbien par unité de matière fraîche  
Analyses statistiques, Rapport d'étude

Métagénomique ciblée, shotgun  
Séquençage de novo de génome, RNASeq  
Détection de variants structuraux, génotypage

Illumina MiSeq et NovaSeq 

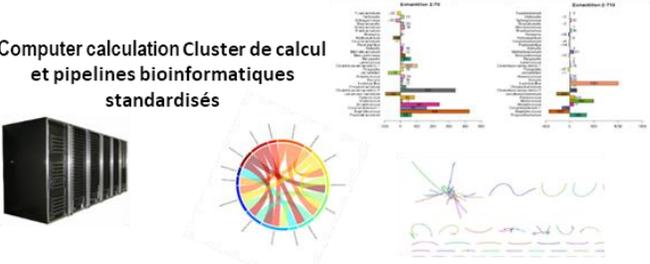
Oxford Nanopore GridION\* et PromethION\* 

PacBio Sequel II 



Données brutes, Assemblage et annotation de génome,  
Analyse différentielle d'expression, catalogue de gènes et étude fonctionnelles, Analyses statistiques, Rapport d'étude

Computer calculation Cluster de calcul et pipelines bioinformatiques standardisés



# > Enjeux Environnement et Santé

## Enjeux du Plan National Santé Environnement 4

1. S'informer sur l'état de son environnement et les bons gestes à adopter
2. Réduire les expositions environnementales pouvant affecter notre santé
3. Démultiplier les actions concrètes menées par les collectivités dans les territoires
4. Mieux connaître les expositions et les effets de l'environnement sur la santé des populations





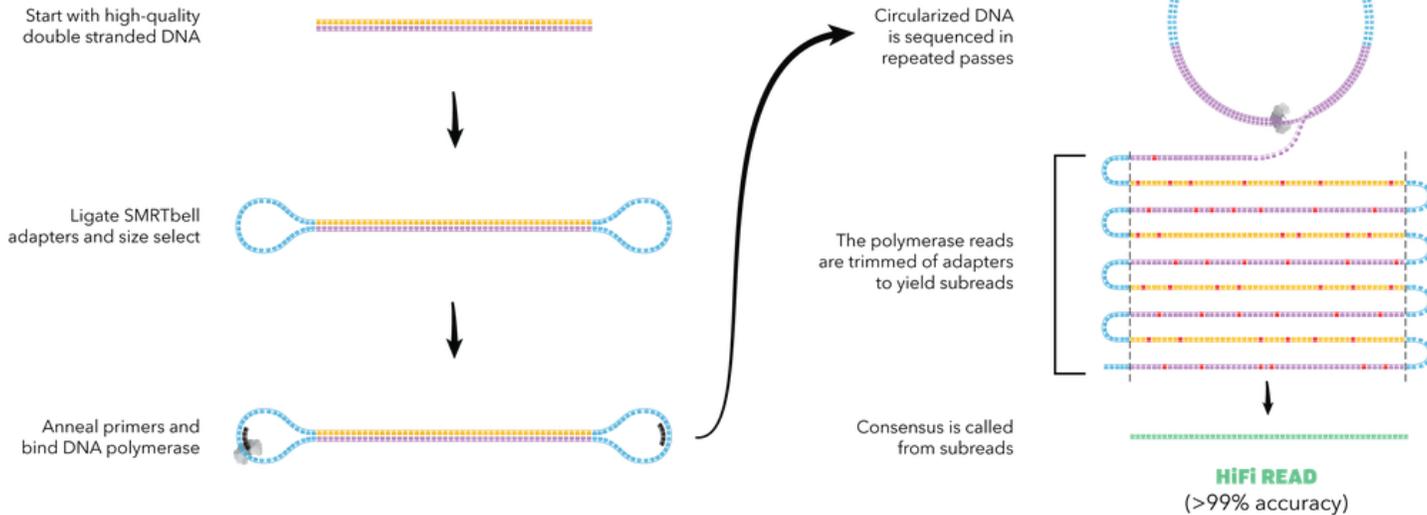
# Identifier la diversité microbienne avec une meilleure résolution

## Séquençage d'amplicons en pleine longueur

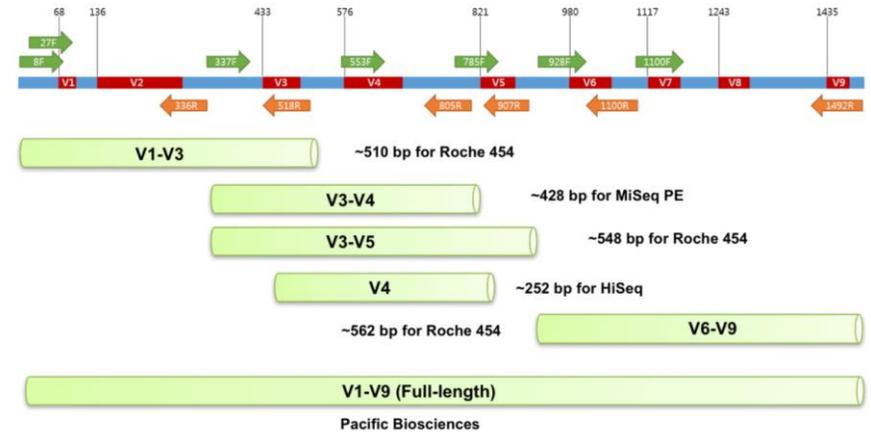
Débit : 1 à 96 échantillons simultanément

Coût : A partir de 300 euros avec l'extraction d'ADN

Délai : 6 semaines à 10 semaines



Source : France Génomique  
<https://www.france-ge genomique.org/>



- Taille des fragments jusqu'à 10 kb
- Production en PacBio, LoopSeq ou Shallow shotgun Illumina,

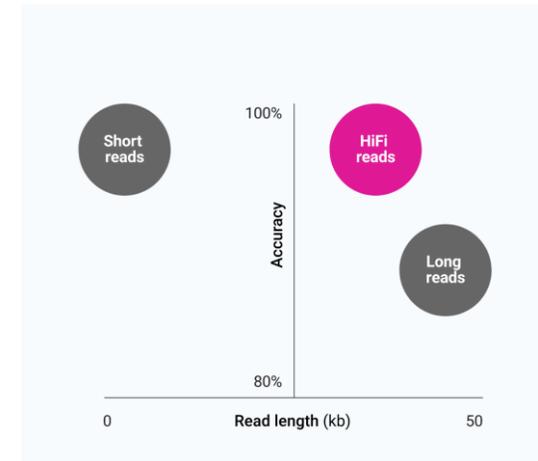


# Identifier la diversité microbienne avec une meilleure résolution

## Séquençage d'amplicons en pleine longueur

### Bénéfices :

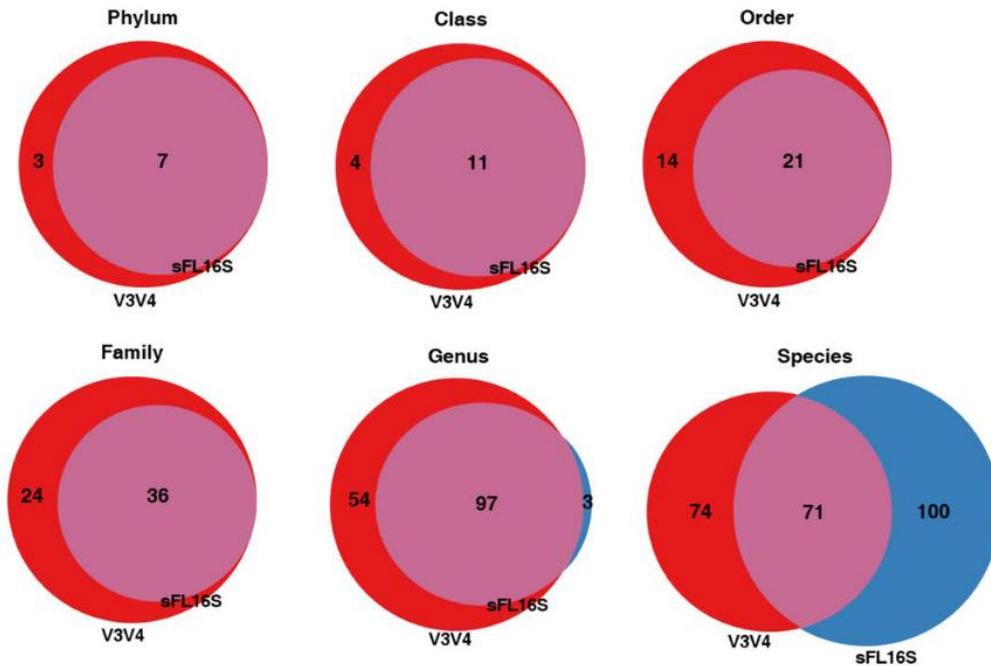
- Identification des microorganismes jusqu'au niveau espèce sur la base des marqueurs moléculaires classiques (16S, 18S, ITS...)
- Nouveaux indicateurs > 500 pb maintenant séquençables à partir d'écosystèmes complexes et permettant d'atteindre le niveau phylotype  
ex : *Cutibacterium acnes*, analyse SLST
- Découverte de nouvelles espèces rares
- Un taux d'erreur plus faible: précision > 99,9% (HiFi reads en PacBio)



# ➤ Identifier la diversité microbienne avec une meilleure résolution

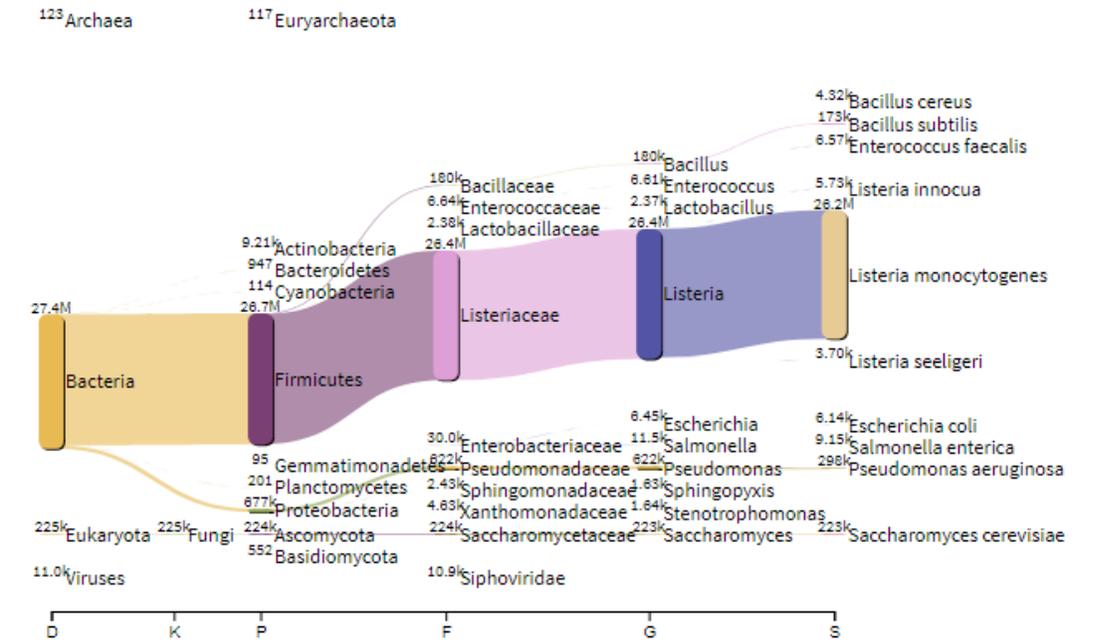
Séquençage d'amplicons en pleine longueur

Une caractérisation plus fine des écosystèmes



Jeong, J., Yun, K., Mun, S. et al. Nature, Sci Rep (2021).

Une résolution pouvant aller jusqu'au niveau espèce



Source : GeT-IT, M. Manno, Shallow Shotgun, communication personnelle



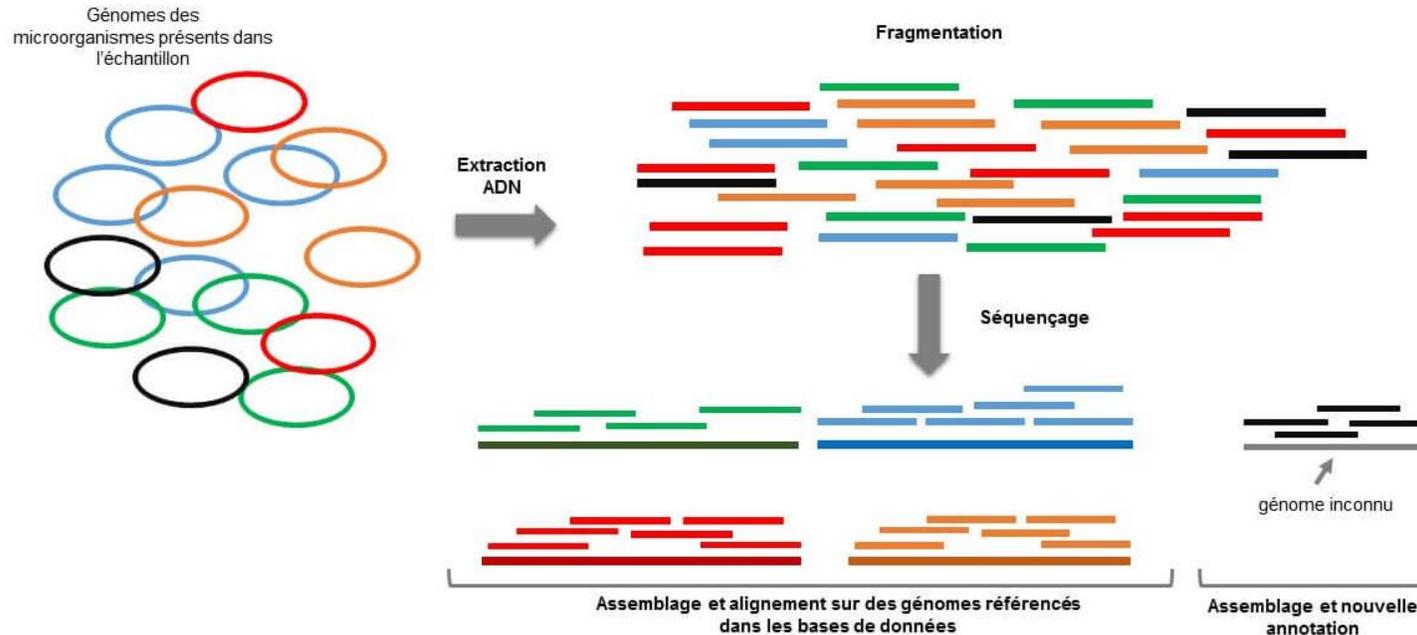
# Caractériser et comprendre la dynamique fonctionnelle des écosystèmes microbiens

## Séquençage Shotgun

Débit : 1 à 384 échantillons simultanément

Coût : A partir de 350 euros (Shallow) avec l'extraction d'ADN, selon projet (Shotgun fonctionnel et taxonomique)

Délai : 6 semaines à 12 semaines



- Taille des fragments 150 pb
- Production en Illumina 350 à 2000 millions de couples de lecture

Source : France  
Génomique  
<https://www.france-genomique.org/>



# Caractériser et comprendre la dynamique fonctionnelle des écosystèmes microbiens

## Séquençage Shotgun

### Bénéfices :

- Meilleure résolution de la description de l'écosystème grâce à une profondeur de séquençage plus grande,
- Seule application qui permet de caractériser sans *a priori* les fonctions d'un écosystème microbien,
- Mesure des abondances et de la représentation de l'ensemble des domaines microbiens (bactéries, archées, eucaryotes, virus ADN) en une seule analyse,
- Reconstitution de génomes connus ou inconnus et alimentation des bases de données internationales
- Identification de microorganismes possible jusqu'au niveau espèce.

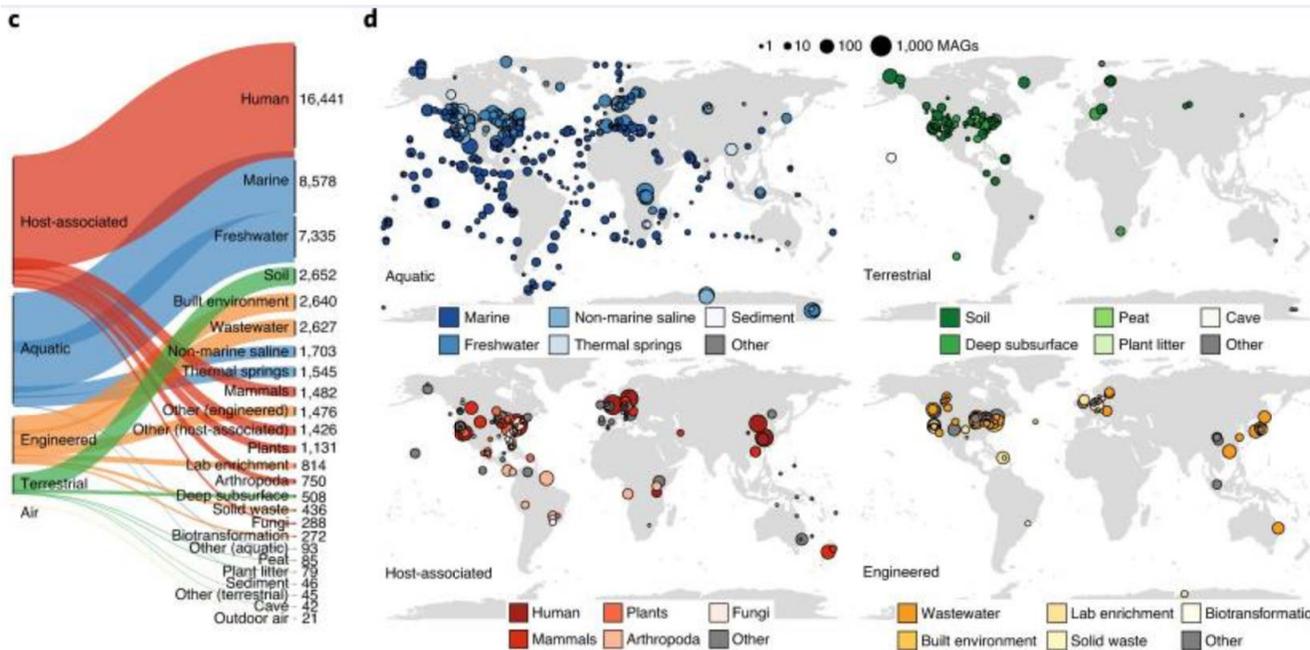


# Caractériser et comprendre la dynamique fonctionnelle des écosystèmes microbiens

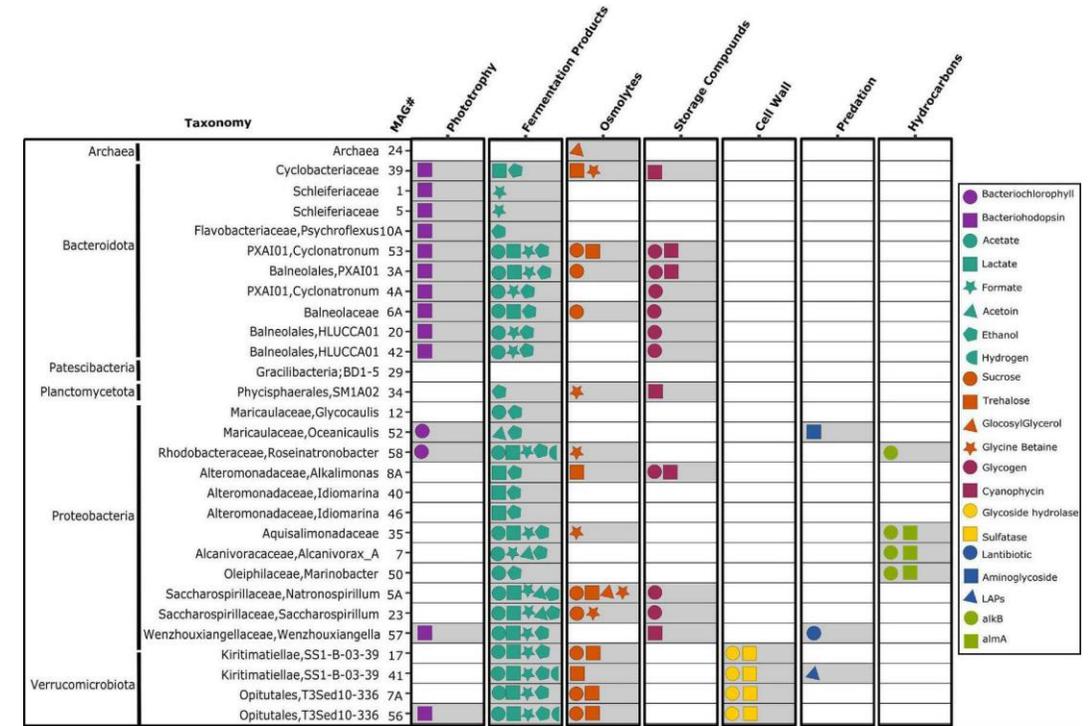
## Séquençage Shotgun

Compréhension de la séquestration microbologique du carbone

Découverte de nouveaux génomes (MAG)



Nat Biotechnol. 2021; 39(4): 499–509.



Ateaian M, Front Microbiol. 2022



# Suivre les gènes d'antibiorésistance dans les différents compartiments

## Séquençage et digital droplet PCR

Débit : 1 à 96 échantillons simultanément

Coût : A partir de 200 euros avec l'extraction d'ADN

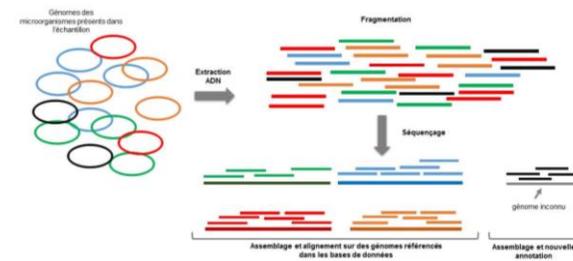
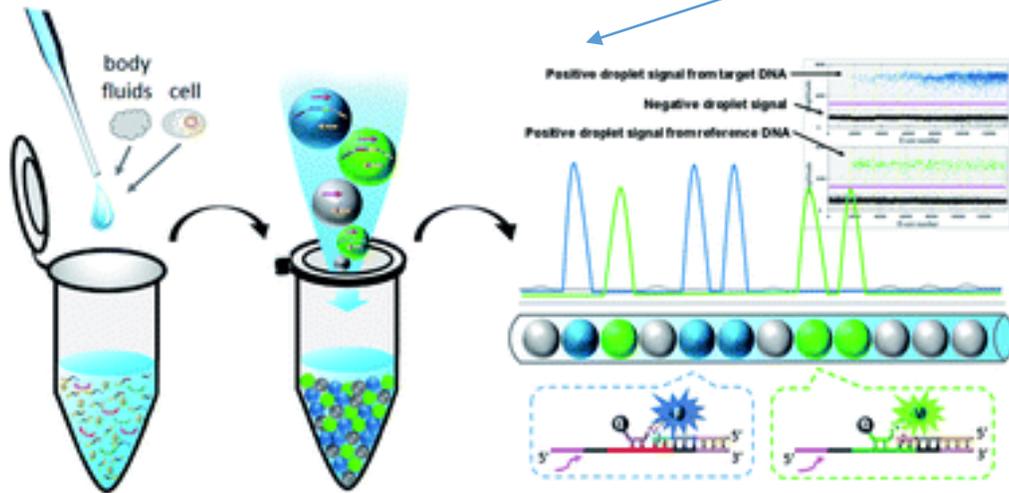
Délai : 2 jours à 2 semaines

ADN

Echantillons d'écosystèmes complexes

Digital droplet PCR

Séquençage Shotgun





# Suivre les gènes d'antibiorésistance dans les différents compartiments

## Séquençage et digital droplet PCR

### Bénéfices :

#### *Séquençage*

- Découverte de gènes d'antibiorésistance -> Résistome
- Prédiction de nouveaux variants

#### *ddPCR*

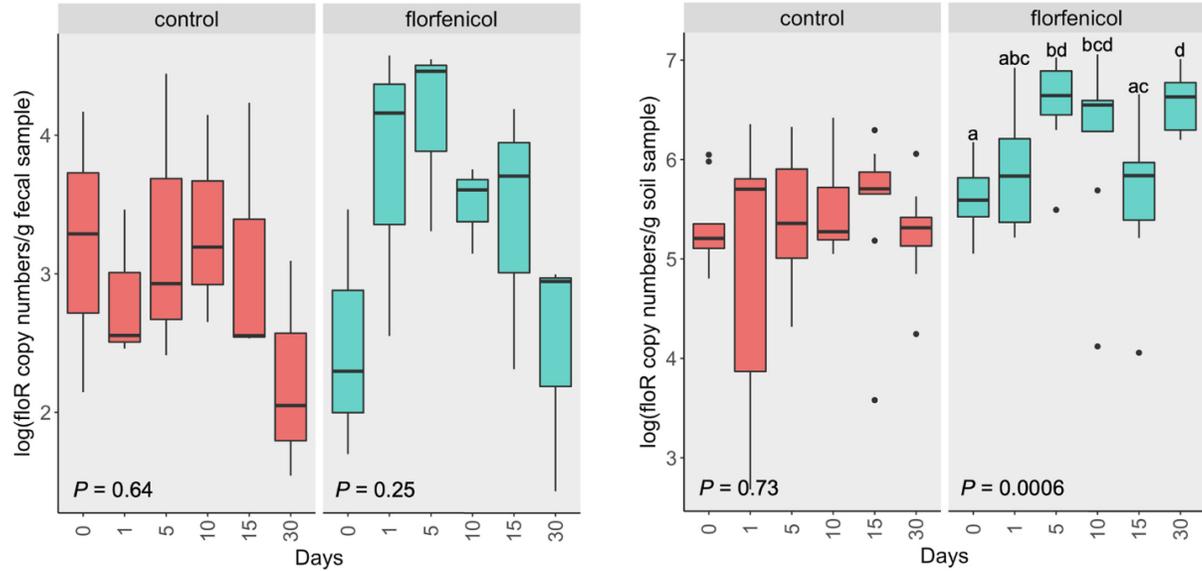
- Quantification plus sensible des gènes d'antibiorésistance
- Mesure absolue sans utilisation d'une gamme étalon
- Approche multi-compartiments et filières, statistiquement représentative



# Suivre les gènes d'antibiorésistance dans les différents compartiments

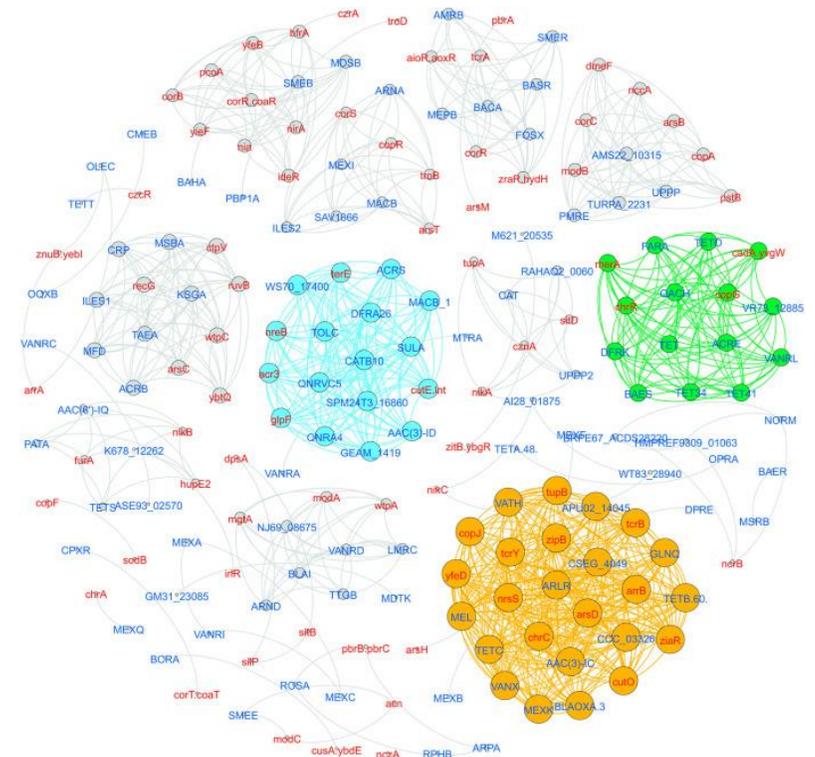
## Séquençage et digital droplet PCR

Impact sur les sols de l'utilisation d'antibiotique dans l'élevage bovin



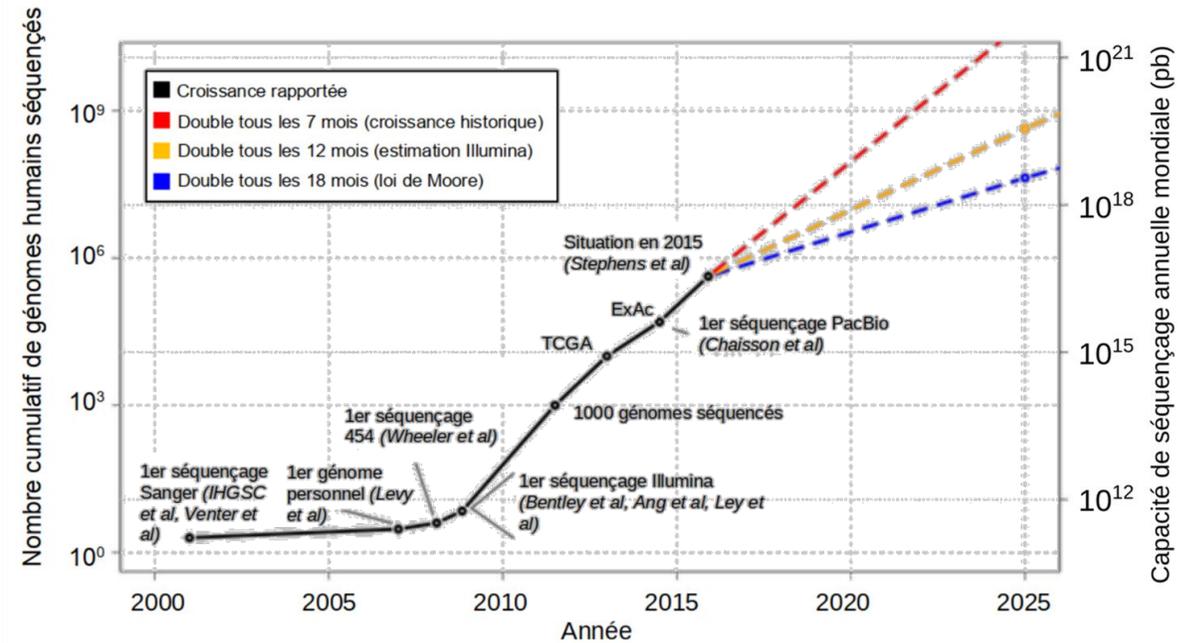
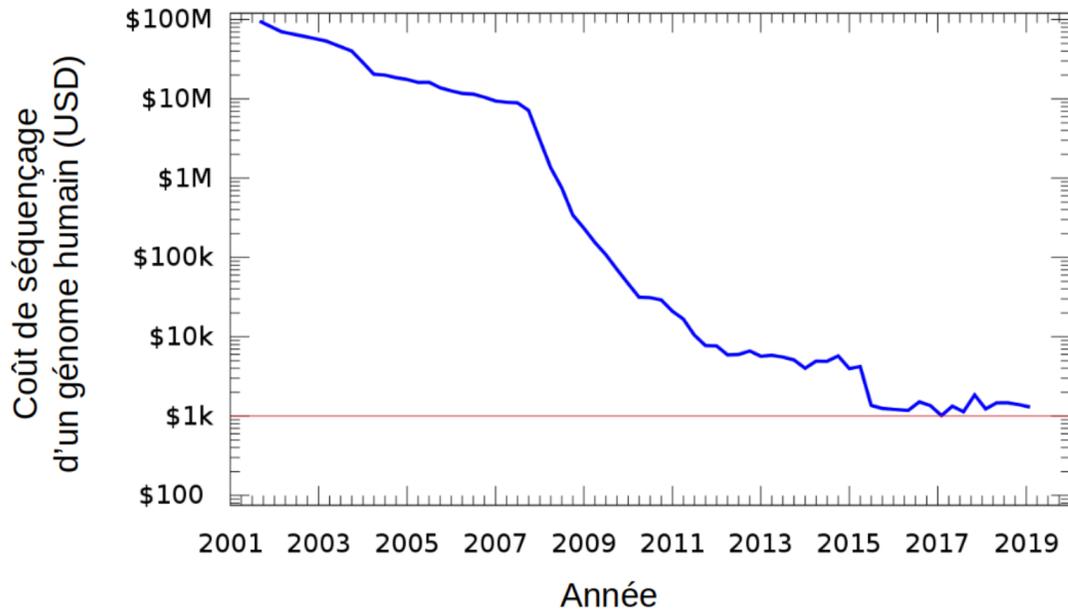
Liu J, et al; Sci Total Environ. 2021

Rôle des microplastiques dans la diffusion des gènes d'antibiorésistances



Andrea Di Cesare, Environmental Pollution, Volume 291, 2021,

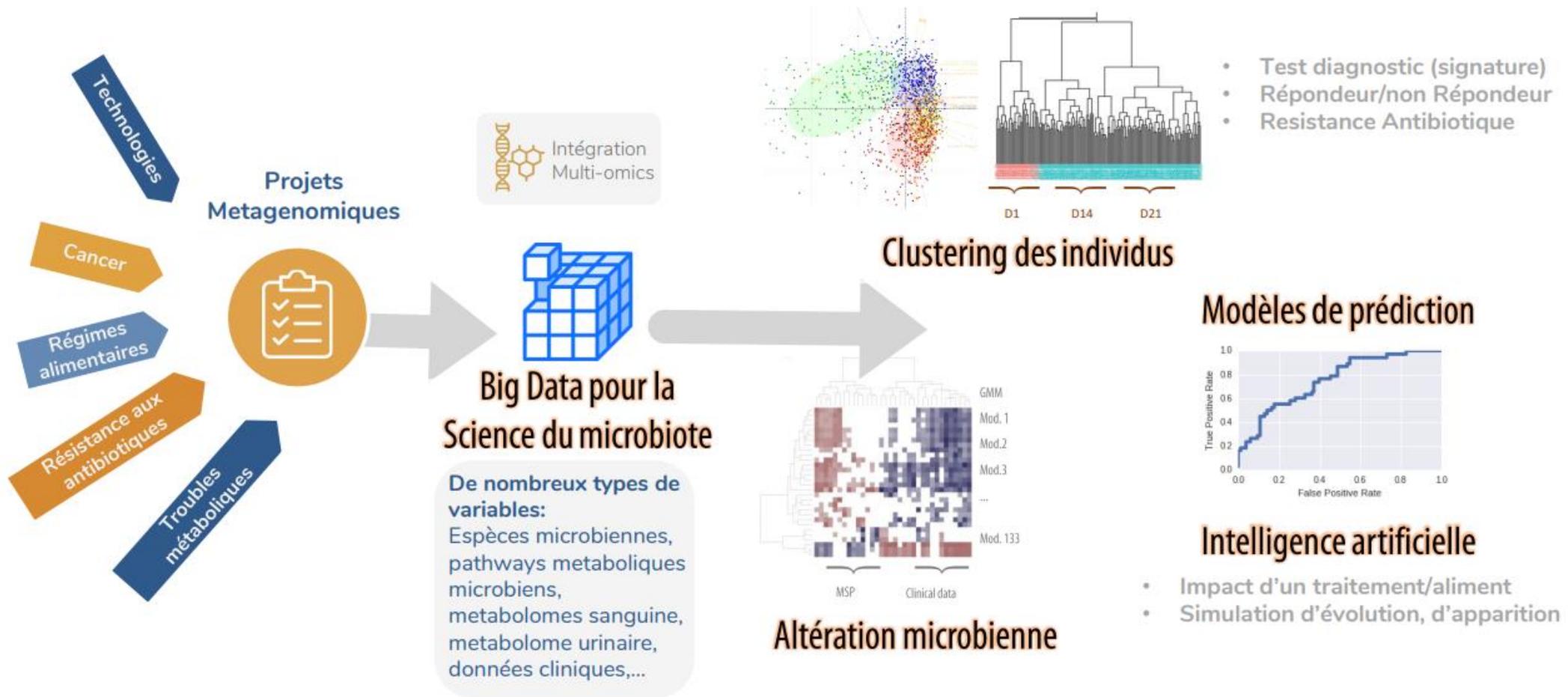
# ➤ Des volumes de données toujours plus grands !



Source : La révolution génomique

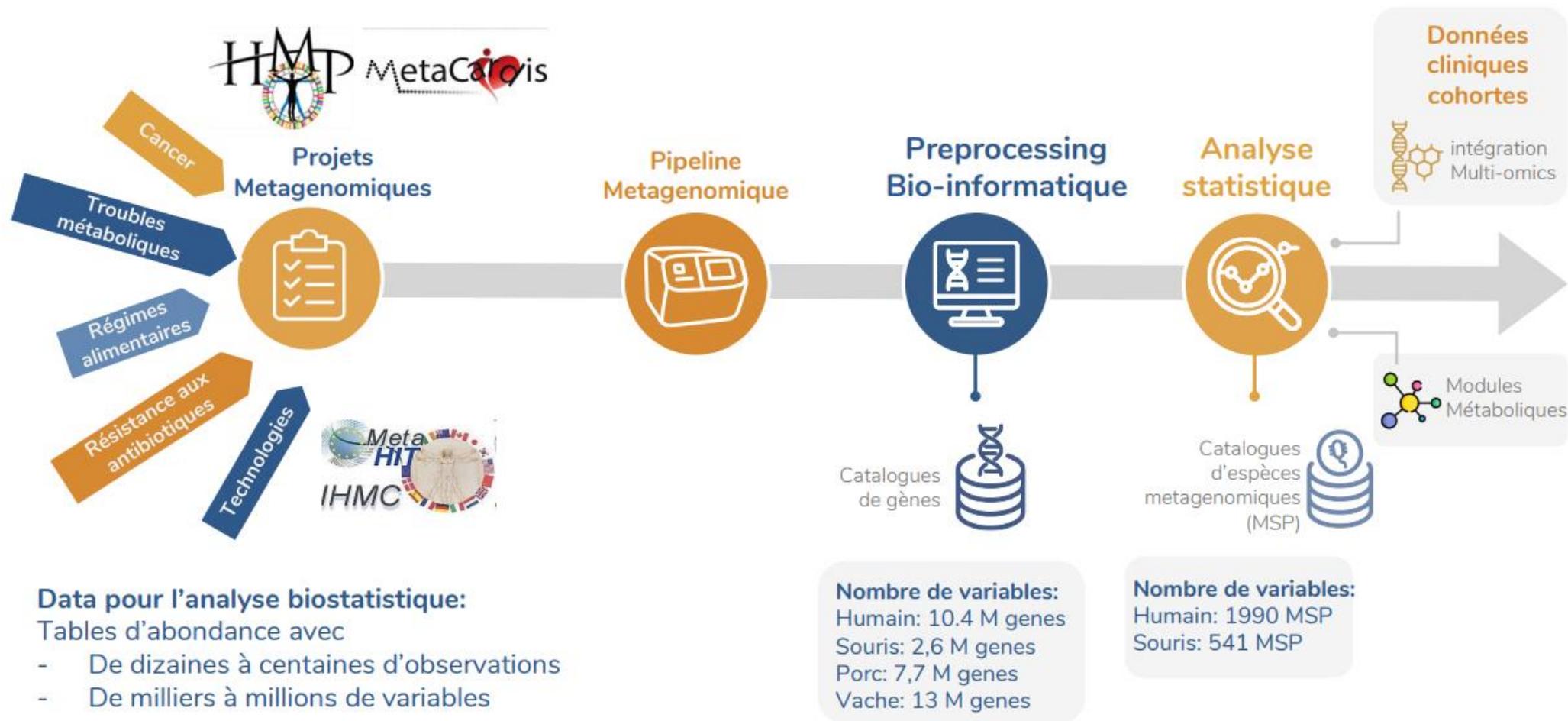
# Capitaliser sur les données produites

Une expertise de Métagénopolis : Datamining et création de bases de données



# Capitaliser sur les données produites

Une expertise de Métagénopolis : Datamining et création de bases de données





## En conclusion

Les efforts restant à poursuivre portent notamment sur l'accroissement du volume et de la précision des données fonctionnelles -> séquençage de génomes, culturomics...

Le lien entre potentiel fonctionnel et activité -> les études portant sur l'ARN des écosystèmes complexes restent complexes à mettre en œuvre,

Des outils moléculaires toujours plus puissants et informatifs,

Ils ont montré, ces deux dernières années, leur efficacité dans la gestion des enjeux d'environnement et de santé #pandemiedeSarS-CoV2,

L'épigénétique sera l'une des nouvelles dimensions apportée à la compréhension des impacts environnementaux sur la santé humaine et animale -> projet SeqOccin [https://get.genotoul.fr/wp-content/uploads/2019/11/190418\\_Presentation\\_SeqOccIn.pdf](https://get.genotoul.fr/wp-content/uploads/2019/11/190418_Presentation_SeqOccIn.pdf)

- >** Répondre aux enjeux environnements et santé : des recherches ambitieuses portées par les évolutions technologiques des NGS

**Un conseil, une visite de la plateforme GeT-PlaGe ?**

**Contacts : [marina.moletta-denat@inrae.fr](mailto:marina.moletta-denat@inrae.fr)**

**[clemence.genthon@inrae.fr](mailto:clemence.genthon@inrae.fr)**

Télécharger le  
catalogue GeT-IT

