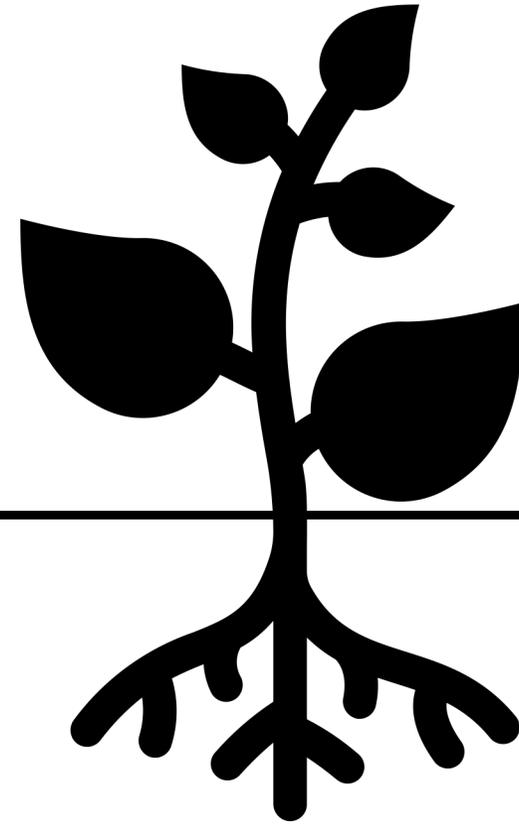


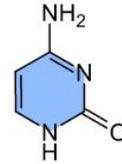
La révolution biotechnologique «Séquençage de Nouvelle Génération» pour l'étude de l'ADN et pour l'analyse métagénomique du sol

Dr. Botti Velca
Région autonome Vallée d'Aoste
Assessorat de l'environnement, des transports et à la mobilité durable
Département Environnement
Structure Biodiversité et espaces naturels protégés



- ✓ molécule commune a tous les êtres vivants
- ✓ structure clarifiée en 1953
(Watson et Crick)
- ✓ composé par 4 briques (*bases azotées*)
 - CITOSINE
 - GUANINE
 - ADENINE
 - THYMINE
- ✓ compose les gènes et les chromosomes
- ✓ son étude représente l'avenir de la recherche dans tous les domaines de la vie
- ✓ différentes techniques d'analyse pour l'étudier!

Cytosine



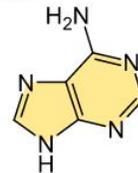
C

Guanine



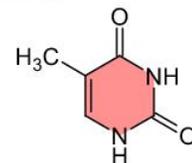
G

Adenine

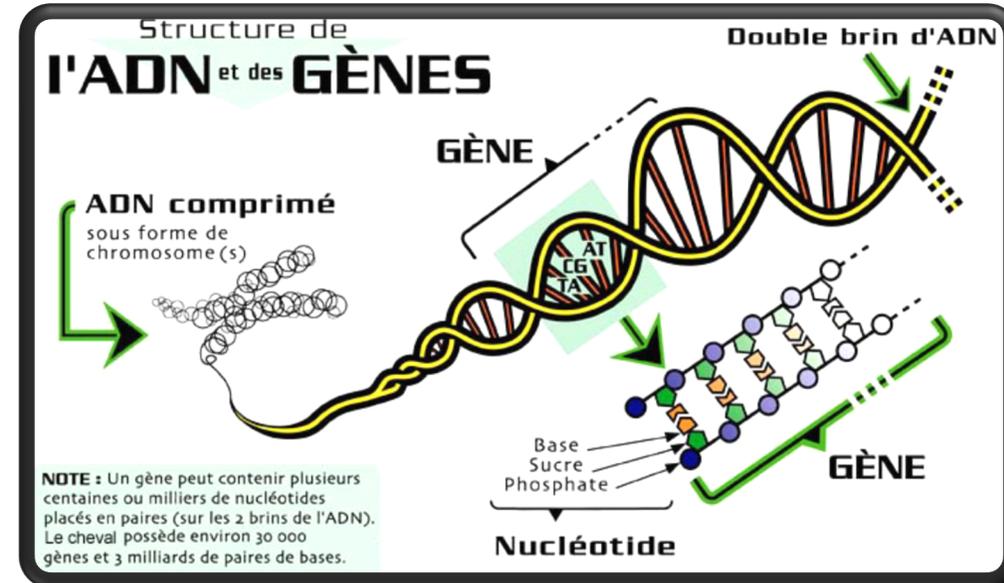


A

Thymine



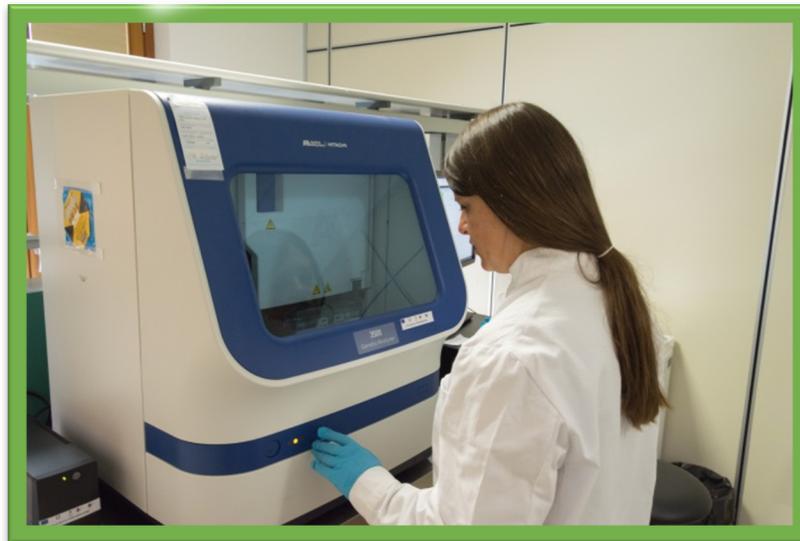
T





Micro-organismes cultivés sur Boîte de Pétri contenant du milieu de culture

Escherichia coli
 Fragment (séquence) d'ADN [COI-5P] de 1989 bases (lettres) du bactérie



Outil de séquençage d'ADN

Séquençage de l'ADN _technologie Sanger

Sequence ID:	GBBAC268-15.COI-5P	GenBank Accession:	CP002185
Last Updated:	2019-09-08	Genome:	Mitochondrial
Locus:	Cytochrome Oxidase Subunit 1 5' Region		
Nucleotides:	1989 bp		

```

ATGTTCCGGAAAATTATCACTTGATGCAGTCCCCTTCCATGAACCTATCGTCATGGTTACG
ATCGCTGGCATTATTTGGGAGGTCTGGCGCTCGTTGGCTGATCACTTACTTCGGTAAG
TGGACCTACCTGTGGAAAGAGTGGCTGACCTCCGTCGACCATAAACGCCTCGGTATCATG
TATATCATCGTGGCGATTGTGATGTTGCTGCGTGGTTTTGCTGACGCCATTATGATGCGT
AGCCAGCAGGCTCTTGCCCTCGGCGGGTGAAGCGGGCTTCCGCCACCTCACCACCTACGAT
CAGATCTTCACCGCGCACGGCGTATTATGATCTTCTTCGTGGCGATGCGCTTTCGTTATC
GGTCTGATGAACCTGGTGGTTCGCTGCAAGATCGGCGCGCGTGACGTTGCGTTCGCCGTC
CTCAACAACCTAAGCTTCTGGTTTACTGTTGTTGGTGTGATTCGGTAAAGCTTCTCCTC
GGCGTGGGCGAATTTGCGCAGACCGGCTGGCTGGCCTATCCACCGCTATCGGGAAATAGAG
TACAGTCCGGGAGTGGTGTGATTACTGGATATGGAGTCTCCAGCTATCCGGTATAGGT
ACGACGCTTACCGGTATCAACTTCTTGGTTACCATTCTGAAGATGCGCGCACCGGGCATG
ACCATGTTCAAGATGCCAGTATTTACCTGGGCATCACTGTGCGCGAACGTACTGATTATT
GCTTCCTTCCCAATTCTGACGGTACCCTGCGGTTGTTGACCTGGATCGCTATCTGGGG
ACCCATTCTTTTAAACGATATGGGTGGCAACATGATGATGATACATCAACCTGATTTGG
GCCTGGGGCCACC CGGAAAGTTTACATCCTGATCCTGCCTGTTTTTCGGTGTGTTCTCCGAA
ATTGCGGCAACCTTCTCGCGTAAACGTCTGTTTGGTTATACCTGCTGGTATGGGCAACC
GTCTGTATCACCCTGCTGCTGTTTCCGTTTGGCTGACCACTTCTTTACGATGGGTGCG
GGCGCGAACGTAAACGCCCTTCTTTGGTATCACCACAATGATTATCGCCATCCCGACCGGG
GTGAAGATCTTCAACTGGCTGTTACCATTGATCAGGGCCGCATCGTGTTCATTCTGCG
ATGCTGTGGACCATCGTTTTATCGTCACTTCTCGGTGGGCGGGATGACTGGCGTCTG
CTGGCAGTACCGGGCGGGACTTGTCTGCTGATCAACAGCTTGTCTGATTAACGACCTTC
CATAACGTGATCATCGGCGGCTGGTCTTCCGCTGCTTCCGAGGGATGACCTATGGTGG
CCTAAAGCCTTCGGTTTCAAACGATGAATGAAACCTGGGGTAAACGCGCTTCTGGTTCTGG
ATCATCGGCTTCTTGGTGGCTTTATGCGCTGATGCGCTGGGCTTCATGGGCATGACC
CGTGGTTTGGAGCAGCAGATTGACCCGCAAGTCCACACCATGCTGATGATTGCAAGTACG
GGTGCAGTACTGATTGCGCTGGGTATTTCTGCTGCTGTTATTCAGATGATACGTTTCTATT
CGCGACCGGACCGAAGCCGTGACCTGACTGGCGACCCGTGGGGTGGCCGATACGCTGGAG
TGGGCAACCTCTTCCCGCTCCGTTCTATAAATTTGCGGTTGTCGCGCACGTTTACAGAG
CGTGTGATTCTGGGAAATGAAAGAGAAAGGCGAAGCGTATAAAAAGCCTGACCACTAT
GAAGAAATTCATATGCCGAAAAACAGCGGTGCAGGTATCGTCATTGCAGCTTCTCCACC
ATCTTCGGTTTCCGCTGATCTGGCATATCTGGTGGCTGGCGATTGTTGGCTTCCGAGGC
ATGATCATCACTGGATCGTGAAGAGCTTCCGACGAGGACGTGGATTACTACGTGCCGGTG
GCAGAAATCGAAAACTGGAAAAACAGCATTTGATGAGATTACTAAGGCGAGGGCTGAAA
AATGGCAAC
    
```

Projet Génome
Humain
publié sur la revue
scientifique
«Nature», 2001

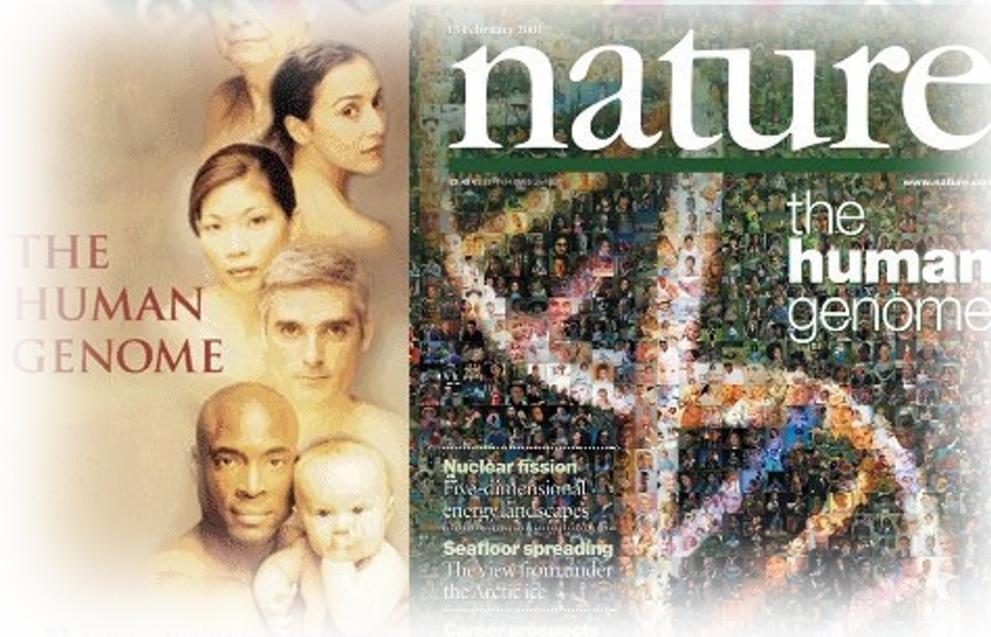


Quand?
1990-2003 (13 ans!)

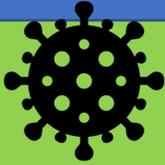
Quelle technique?
Séquençage Sanger de l'ADN

Coût?
3 milliards de dollars

Qui?
20 centres de recherche



identification de
pathogènes
(coronavirus Sars-Cov 2)



surveillance de la
sécurité alimentaire



surveillance de
l'environnement



étude de la biodiversité



compréhension des
génomomes -> comprendre
la vie!

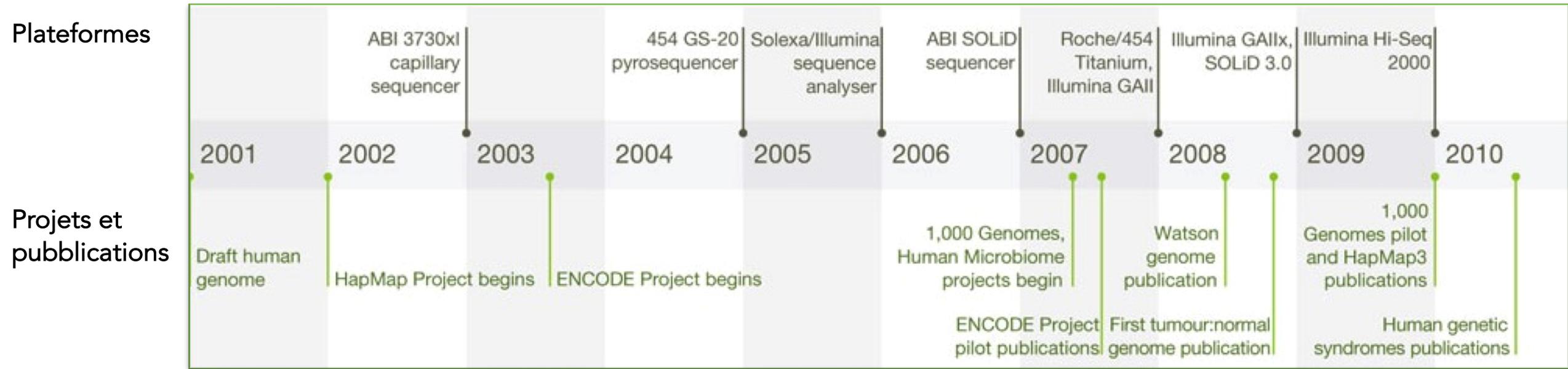


caractérisation des
résistance aux
antibiotiques



Technologie Sanger Sequencing (dès 1977)

Technologie NGS (dès 2004)



2020

GENOME
HUMAIN

3.2 milliards
de paires de
bases

20.000
gènes

NGS

< 1000
dollars

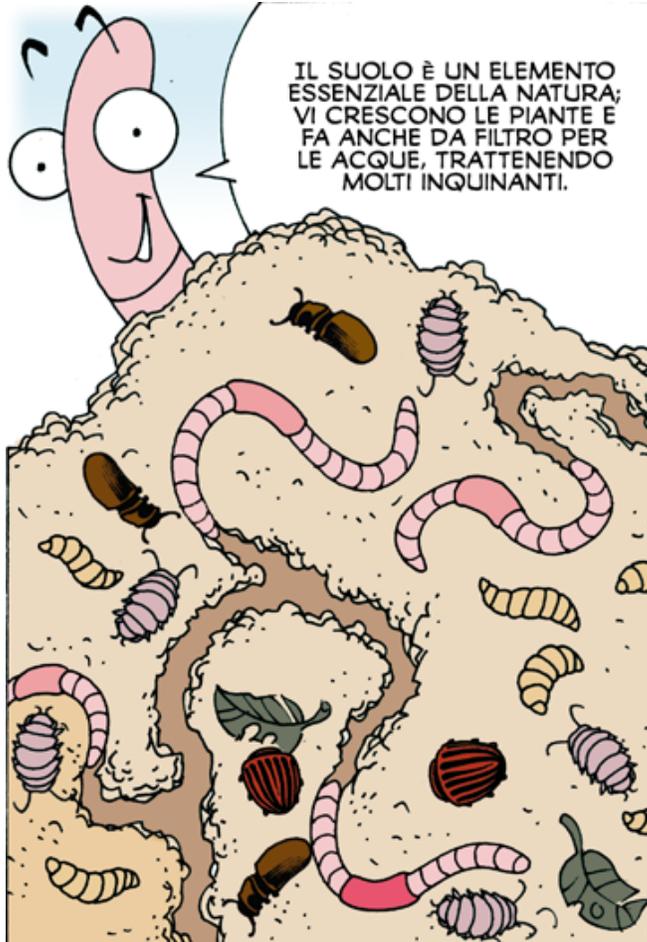
1 seul centre
de recherche

quelques
jours

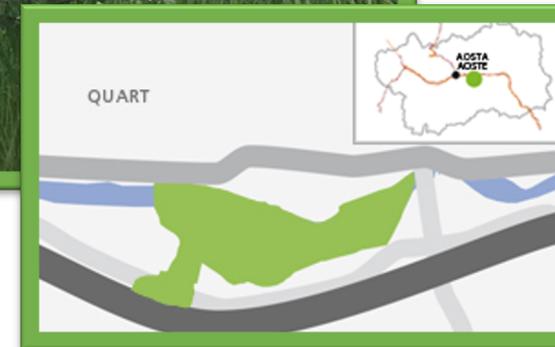
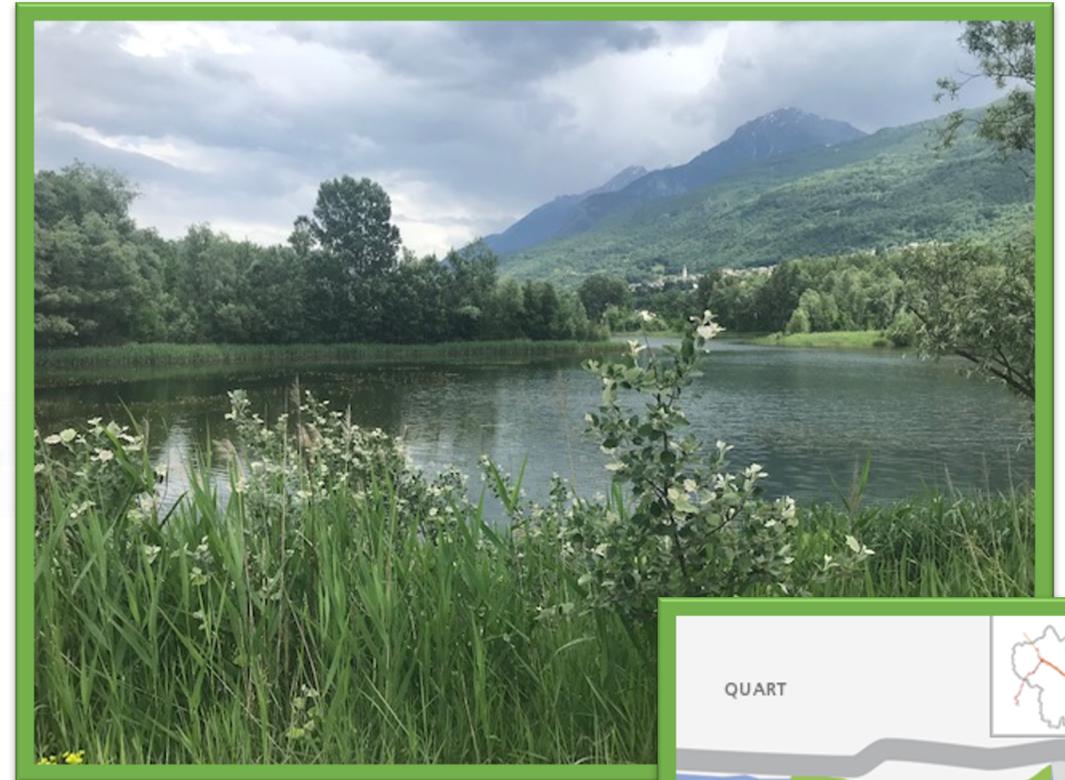
- technologie de séquençage haut-débit
- lit simultanément des millions de fragments d'ADN (centaines / milliers de gènes)
- révolution pour le monde de la génomique
- avenir de la recherche scientifique
- de plus en plus utilisé dans les domaines humains et vétérinaires
- peu exploité dans le domaine environnemental
- désavantageux pour
 - ✓ la grande quantité de données,
 - ✓ la nécessité des complexes analyses bioinformatiques
 - ✓ la disponibilité limitée de données pour des études comparatifs
- permet les études métagenomiques



- nommé aussi **génomique environnementale**
- a bouleversé notre vision du **monde microscopique** (dévoilant l'incroyable biodiversité des écosystèmes microbiens, qu'ils résident dans les fonds marins, *sous terre* ou dans nos intestins)
- méthode d'étude du contenu génétique d'échantillons issus d'**environnements complexes** (par exemple le sol)
- permet d'**identifier des milliards d'espèces** (faune, végétaux et micro-organismes – important pour ceux réfractaires à toute culture en laboratoire)
- basée sur **Séquençage de Nouvelle Génération**
- permet un aperçu du **potentiel fonctionnel** d'un environnement



Utilisation expérimentale d'analyses NGS à partir de l'ADN du sol pour étudier la biodiversité d'un habitat avant la restauration écologique



Réserve naturelle Les Iles de Saint Marcel
(Vallée d'Aoste) - IT1205070





ZONE
DESTINÉE À LA
RESTAURATION
ÉCOLOGIQUE

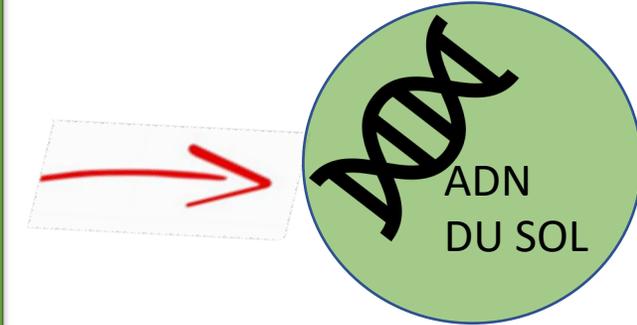
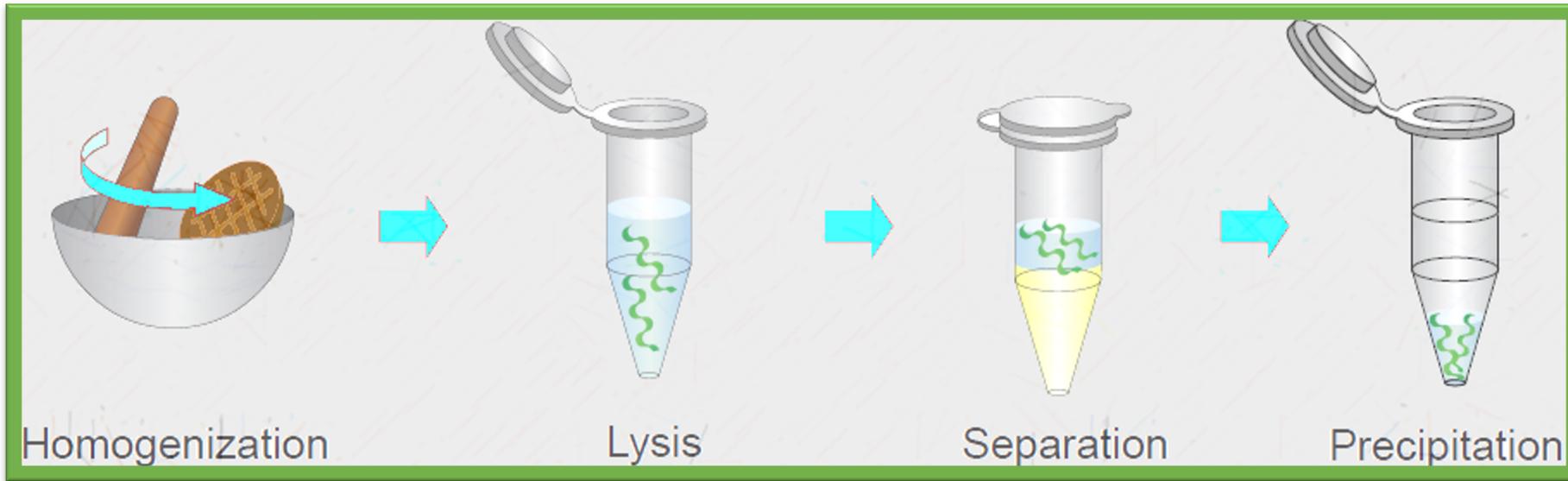


Échantillons du
sol avant la
restauration

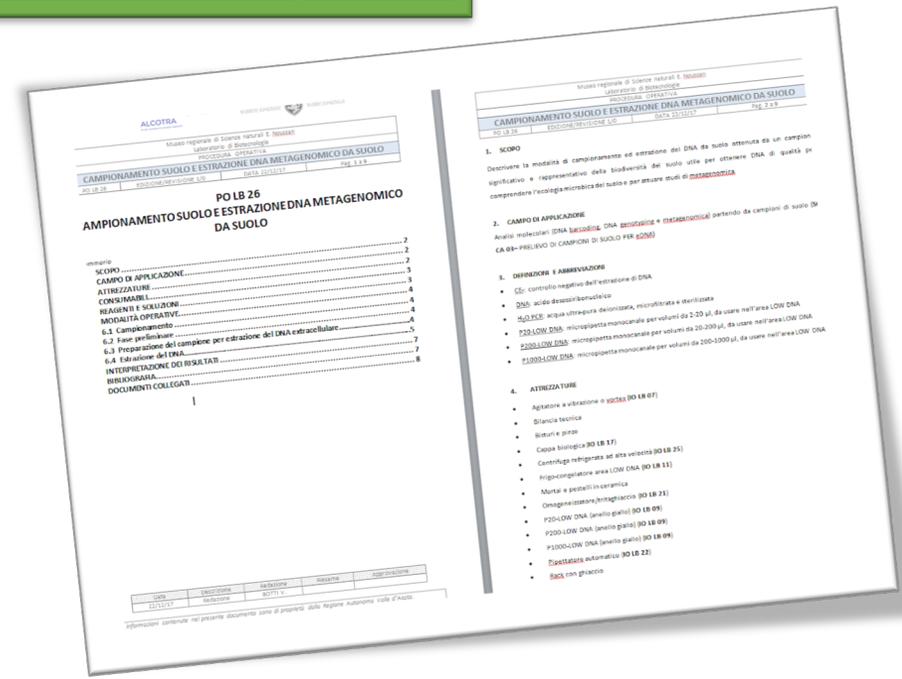


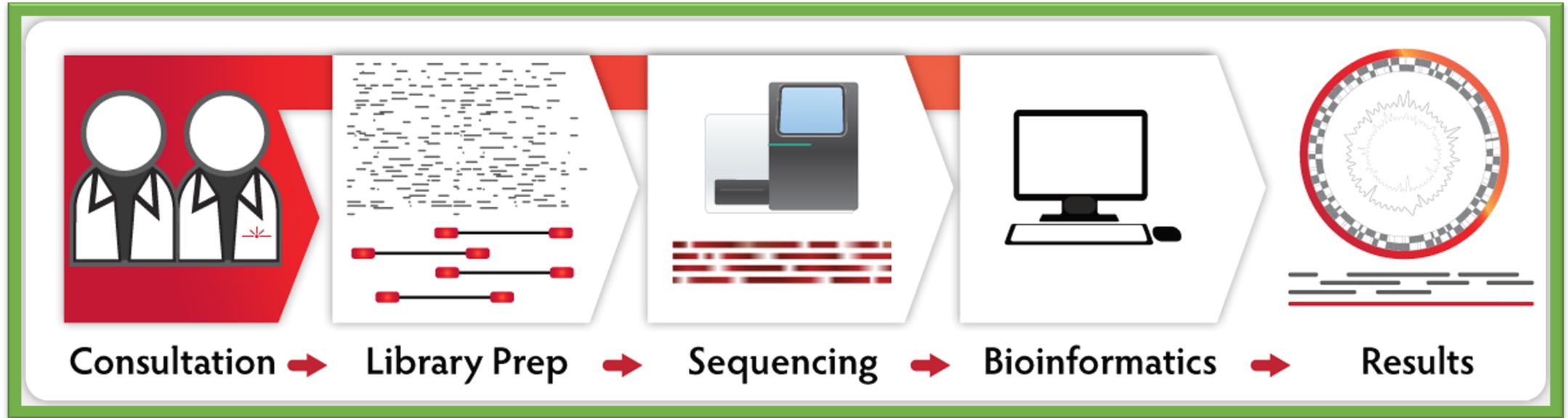
Collecte et identification unique des échantillons



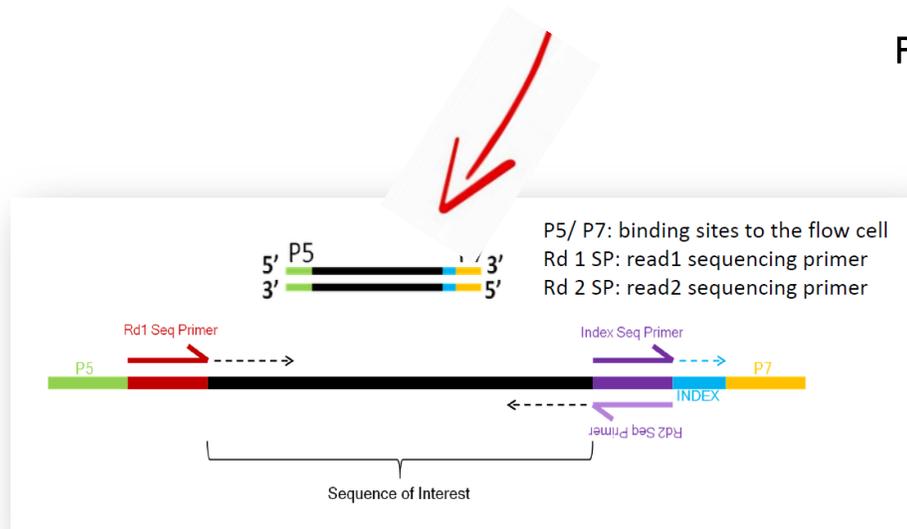


PO LB 26. Procédure opérationnelle d'échantillonnage et d'extraction de l'ADN métagénomique du sol



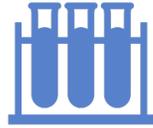


Processus opérationnel pour le Séquençage de Nouvelle Génération





ANALYSE NGS 1 WHOLE GENOME

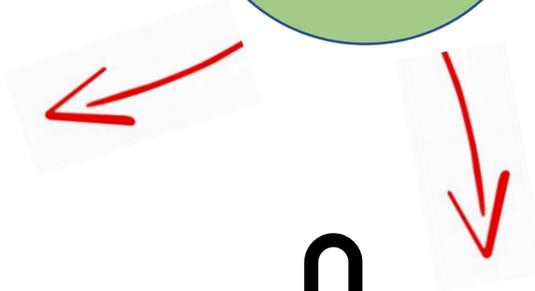


toute la biodiversité
y compris le microbiote

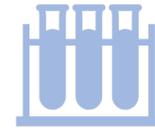
8– 19 millions
séquences d'ADN de 125 bases
par échantillon



HiSeq Illumina
(San Diego, CA)



ANALYSE NGS 2 METABARCODING



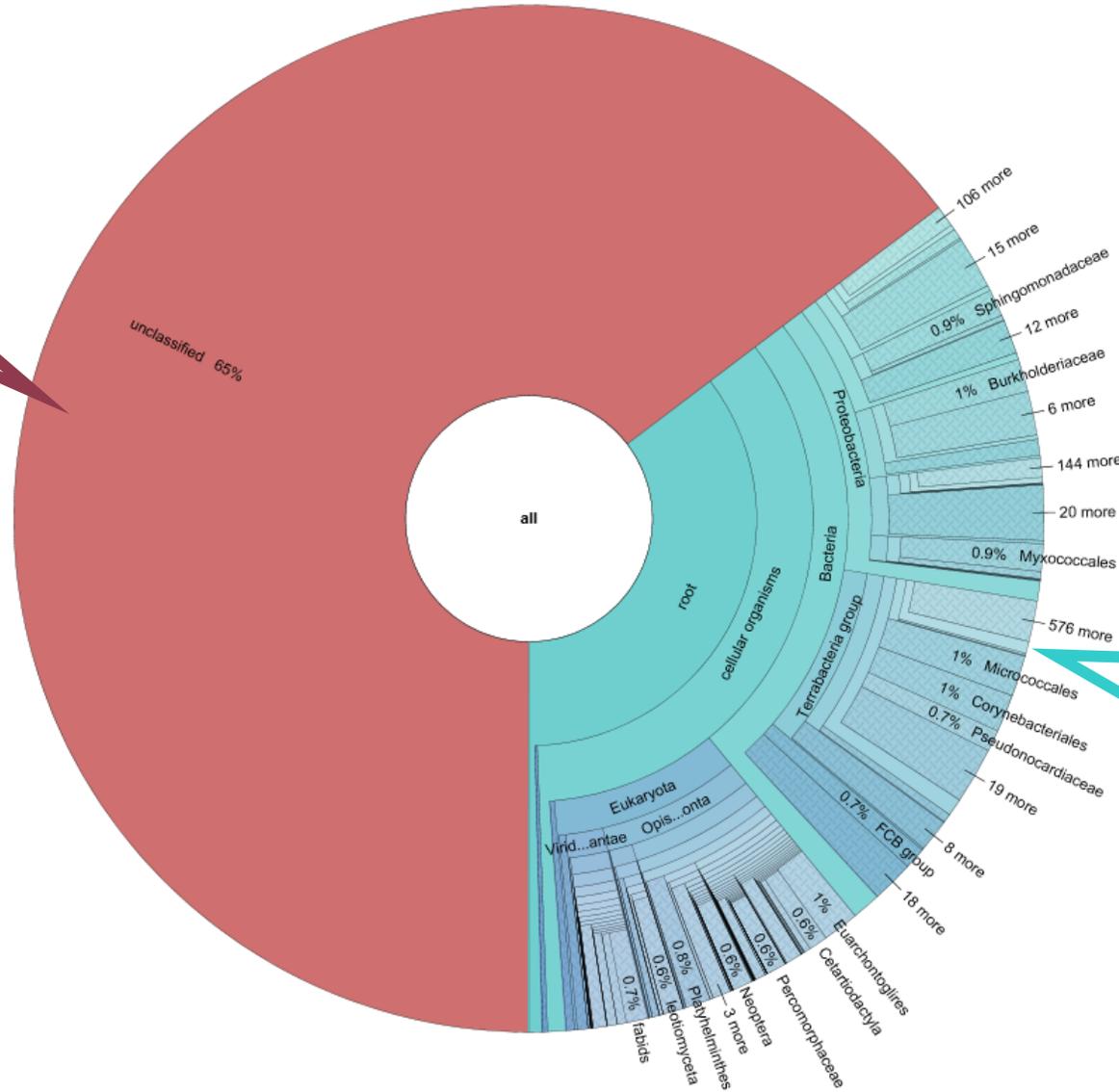
Bactéries
MARQUER 16S
113.000-250.000
séquences d'ADN de 300 bases par échantillon

Champignons
MARQUER ITS
82.000 - 232 .000
séquences d'ADN de 300 bases par échantillon



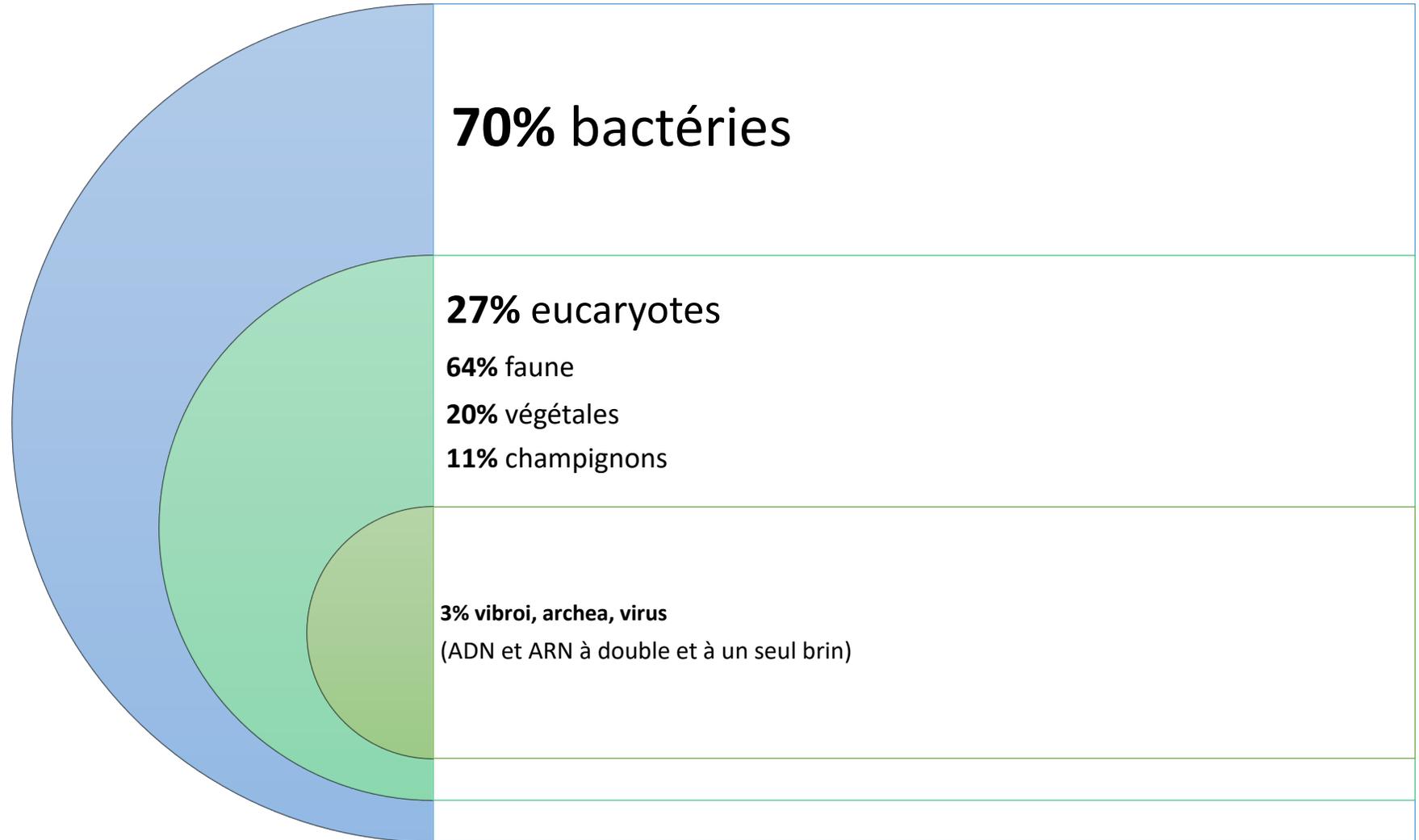
MySeq Illumina
(San Diego, CA)

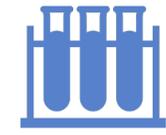
65%
séquences d'ADN
pas classifiées



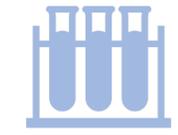
35%
séquences
d'ADN
attribuables aux
organismes
cellulaires et virus

**35%
séquences
d'ADN
attribuables
aux
organismes
cellulaires et
virus**





Whole genome NGS
BACTERIES
 ~ 1200 espèces
 bactériennes assignées
 (au moins 100
 fragments d'ADN)

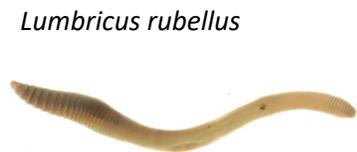
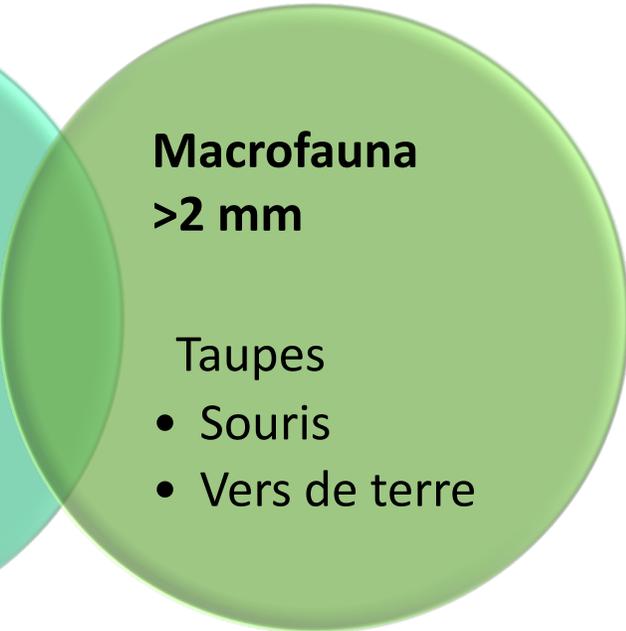
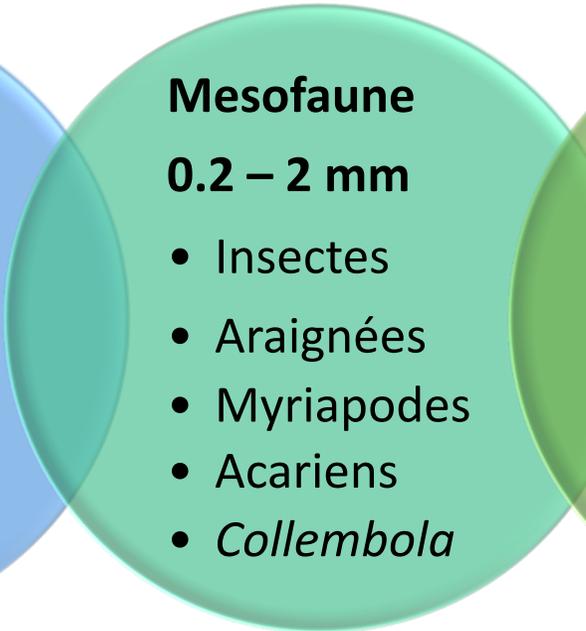
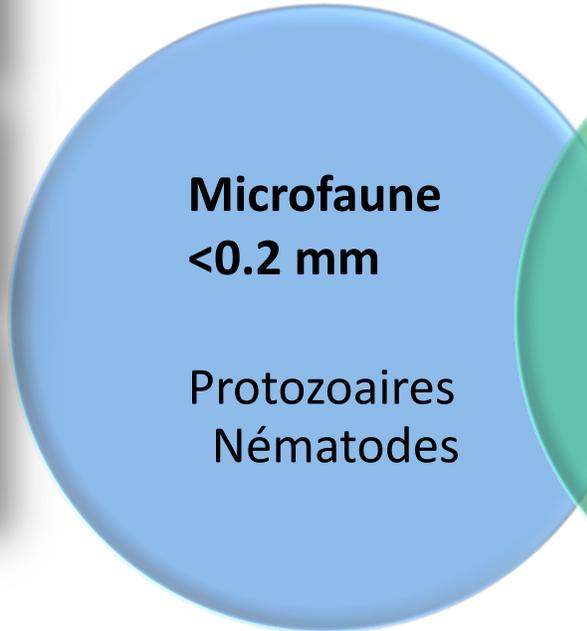
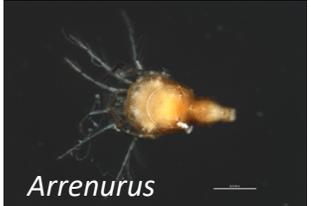


Metabarcoding NGS
BACTERIES
 ~ 400 espèces
 bactériennes
 identifiées

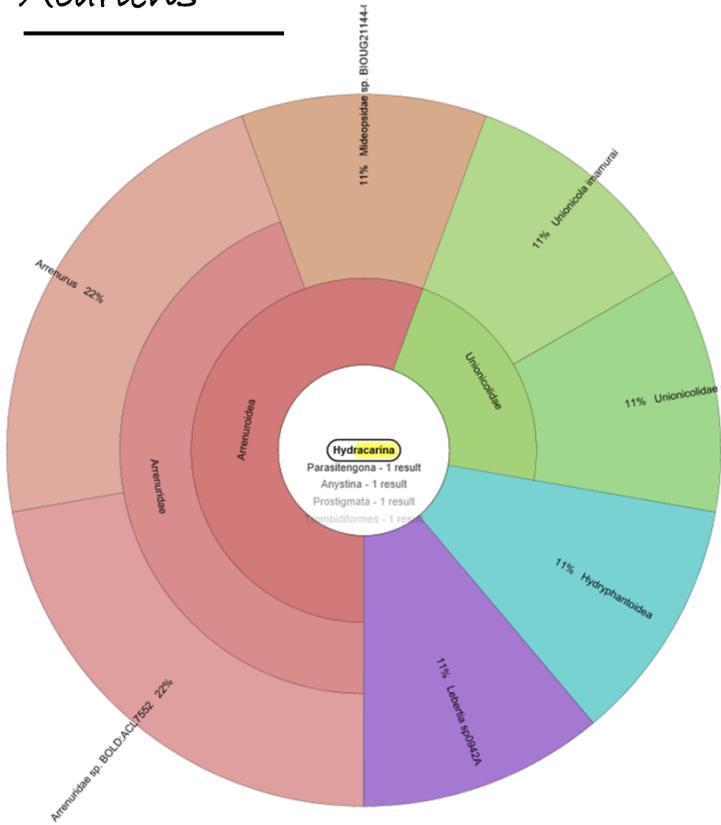


+65%
 biodiversité
 bactérienne identifiée

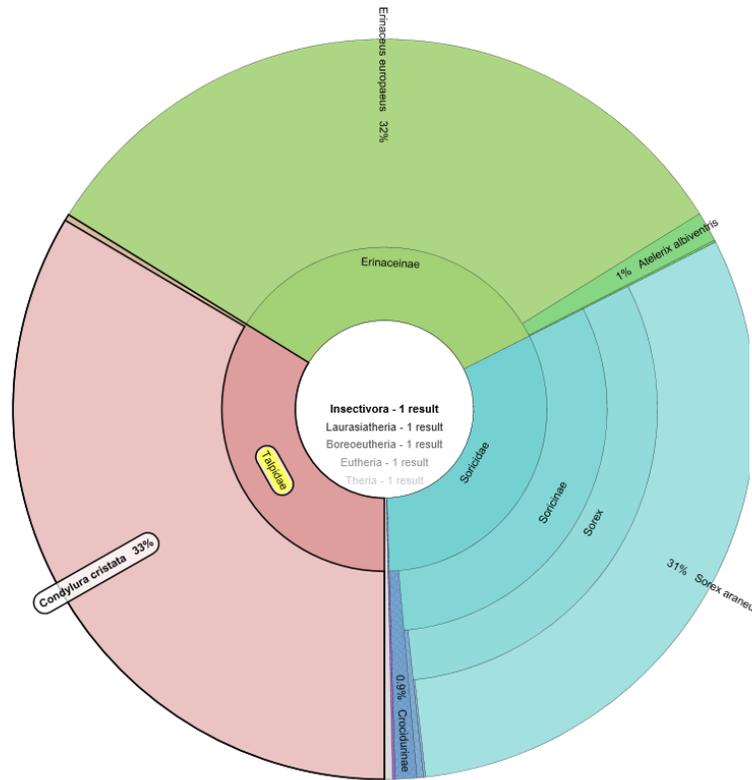
Carte circulaire Krona de l'échantillon n.13 « sol de surface des Iles avec végétation spontanée »_bacteries_analyse whole genome



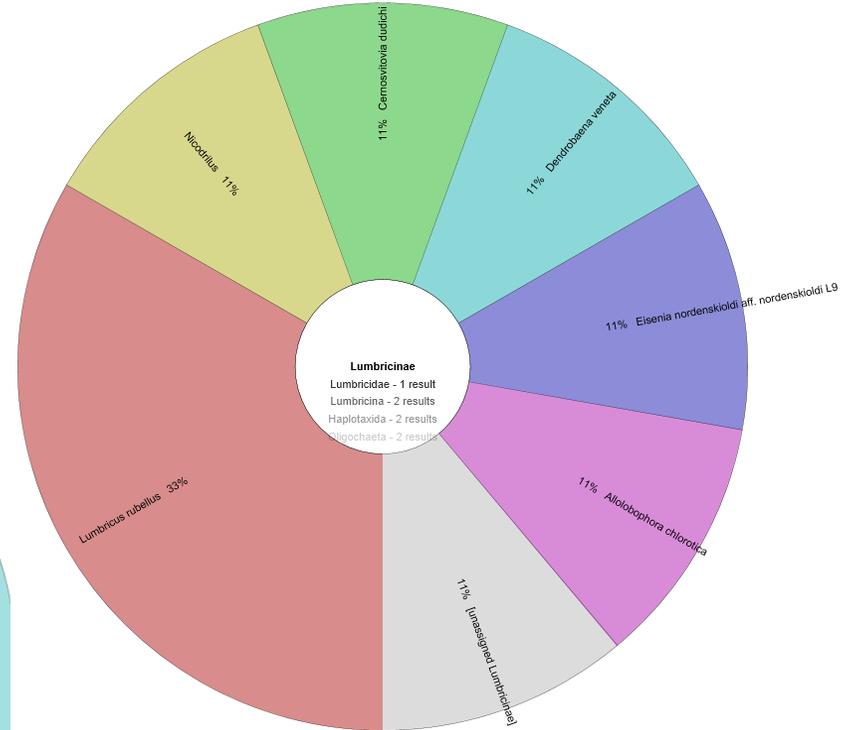
Acaréens



Insectivores



Vers de terre



Merci pour l'attention!

Dr. Botti Velca
Région autonome Vallée d'Aoste
Assessorat de l'environnement, des transports et à la mobilité durable
Département Environnement
Structure Biodiversité et espaces naturels protégés

