



SERVICES DE GENOTYPAGE

Centre d'expertise et de services Génome Québec

Guide de l'utilisateur : Design de marqueurs personnalisés ThermoFisher Scientific et Illumina

Version 2.0

Table des matières

TABLE DES MATIÈRES	2
DIRECTIVES POUR SOUMETTRE LA LISTE DE MARQUEURS	3
CREATION DES LISTES DE MARQUEURS	3
DIRECTIVES POUR SOUMETTRE LA LISTE DE MARQUEURS	4
<i>Liste de marqueurs rs# humains et murins : IdentityList</i>	4
<i>Liste de séquences (toutes les espèces) : SequenceList</i>	4
<i>Liste de designs existants (toutes les espèces) : ExistingDesignsList</i>	5
<i>Liste de gènes humains : GeneList</i>	5
<i>Liste de régions génomiques humaines : RegionList</i>	6
<i>Liste de régions génomiques humaines pour l'analyse de CNVs : CNVRegionList</i>	6
POUR PLUS D'INFORMATION	6
BUREAU DE GESTION DES CLIENTS	6

Directives pour soumettre la liste de marqueurs

Création des listes de marqueurs

Seuls les marqueurs bi-alléliques tels les SNPs (polymorphismes à nucléotide simple) et les indels (polymorphismes d'insertion/délétion) avec une seule localisation peuvent être génotypés.

Par contre, les MNPs (polymorphismes à nucléotides multiples), SSRs (séquences répétitives simples) ou les SNPs à localisation ambiguë ou multiple ne peuvent être génotypés.

Le nombre de loci pouvant être génotypés sur les biopuces personnalisées est de:

- iSelect-24: de 3,072 à 90,000 marqueurs peuvent être choisis pour la composition du panel.
- iSelect-12: de 90,001 à 250,000 marqueurs peuvent être choisis pour la composition du panel.
- iSelect-4 : de 250,001 à 1,000,000 marqueurs peuvent être choisis pour la composition du panel.

Pour les biopuces semi-personnalisées, le nombre de loci est de :

BeadChip	Nombre de marqueurs par échantillon	Capacité d'ajout de marqueurs personnalisés
GSA (Global Screening Array)	~ 640,000	50,000
GSA-MD (Global Screening Array + Multi Disease)	~ 670,000	20,000
GDA (Global Diversity Array)	~1,800,000	N/A
OncoArray	~ 499,000	120,000
CanineHD	~ 172,000	N/A
BovineHD	~ 777,000	N/A
BovineSNP50	~ 53,000	600,000
BovineLD	~ 8,000	80,000
PorcineSNP60	~ 64,000	25,000
MaizeSNP50	~ 56,000	N/A

Un score de qualité pour le design de chacun des marqueurs est assigné.

Le score minimum de 0.4 est requis pour qu'un marqueur soit inclus dans le panel.

Puisqu'environ 10 % des marqueurs échoueront à l'étape du design d'amorces, il est donc recommandé de fournir une liste plus longue afin d'obtenir suffisamment de marqueurs avec un score acceptable (≥ 0.4) pour la constitution finale du panel.

Si applicable, le niveau de priorité de chacun des marqueurs, haute (5) ou basse (0) doit être indiqué, si applicable.

La fréquence de l'allèle mineur (MAF) attendue des marqueurs doit être indiquée si elle est connue.

Le nombre de loci pouvant être génotypés sur les biopuces personnalisées de ThermoFisher est de:

- 384 biopuces par plaque: de 1,500 à 50K marqueurs peuvent être choisis pour le panel.
- 1x96 biopuces par plaque: de 50K à 675K marqueurs peuvent être choisis pour le panel.
- 2x48 biopuces par plaque: de 675K à 1.3M marqueurs peuvent être choisis pour le panel.
- 3x32 biopuces par plaque: de 1.3M à 2M marqueurs peuvent être choisis pour le panel.
- 4x24 biopuces par plaque: de 2M à 2.6M marqueurs peuvent être choisis pour le panel.

Directives pour soumettre la liste de marqueurs

La liste de marqueurs doit être nommée ainsi : *NomDuProjet_SequenceList_YYYY-MM-DD.csv*.

Les formulaires pour la soumission des listes de marqueurs sont :

- Liste de marqueurs rs# humains et murins : IdentityList
- Liste de séquences (toutes les espèces) : SequenceList
- Liste de designs existants (toutes les espèces) : ExistingDesignsList
- Liste de gènes humains : GeneList
- Liste de régions génomiques humaines : RegionList
- Liste de régions génomiques humaines pour l'analyse de CNVs : CNVRegionList

Les formulaires pertinents au projet doivent être remplis et soumis électroniquement au personnel des services de génotypage.

Liste de marqueurs rs# humains et murins : *IdentityList*

Ce formulaire doit être utilisé pour soumettre la liste des marqueurs répertoriés dans dbSNP.

Seul le numéro d'identification du marqueur (rs ID) est requis.

Liste de séquences (toutes les espèces) : *SequenceList*

Ce formulaire est utilisé pour les marqueurs d'origine autre que murine ou humaine.

Ce formulaire est utilisé pour les marqueurs d'origine murine ou humaine provenant d'une source autre que dbSNP.

Les instructions ci-dessous doivent être suivies pour la soumission de vos séquences.

- Le nom des marqueurs dans le champ *Locus_Name* ne doit pas commencer par 'rs' et ne doit pas excéder 15 caractères.
- Il faut fournir au moins 100 paires de bases de séquences avoisinantes de part et d'autre du marqueur.
- Pour spécifier un SNP d'intérêt dans la séquence soumise, des crochets doivent être placés autour du locus polymorphique, en séparant les deux allèles par une barre oblique.
 - ...TGC[A/C]CCG...

- Pour spécifier un indel d'intérêt dans la séquence soumise, des crochets doivent être placés autour du locus polymorphique, en séparant les deux allèles par une barre oblique. L'indel est identifié par le signe moins (-).
 - ...TGC[-/AT]CCG...
- Les régions répétées ou dupliquées dans les séquences avoisinantes doivent être masquées par des nucléotides en minuscule, sauf pour les 25 paires de base situées de chaque côté du marqueur d'intérêt.
 - ...GTGACGaaatttaaattattttaaatttaGCGT...
- Les SNPs et les MNPs voisins dans la séquence doivent être indiqués en utilisant les symboles de l'IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) listés dans le tableau ci-dessous :
 - ...GTTTGAA{G/C}CTGGACC... → ...GTTTGAASCTGGACC...

IUPAC Symbols	Wobble Mixtures
R	A/G
Y	C/T
M	A/C
K	G/T
S	C/G
W	A/T
B	C/G/T
D	A/G/T
H	A/C/T
V	A/C/G
N	A/C/G/T

- Les polymorphismes d'insertion/délétion entourant le locus d'intérêt doivent être indiqués par un "N".

Liste de designs existants (toutes les espèces) : *ExistingDesignsList*

Ce formulaire doit être utilisé pour la soumission de designs déjà existants.

Seuls les numéros *Ilmn_Id* sont requis.

Liste de gènes humains : *GeneList*

Ce formulaire doit être utilisé pour obtenir la liste complète de tous les marqueurs (rs#) assignés à un gène (régions codantes et non-codantes).

Le numéro d'accèsion de la séquence de référence du gène est requis (NM_).

La taille des régions en amont et en aval des gènes d'intérêt doit être spécifiée.

Liste de régions génomiques humaines : *RegionList*

Ce formulaire doit être utilisé pour obtenir la liste complète de tous les marqueurs (rs#) assignés une région définie d'un chromosome humain.

Le chromosome et la plage de coordonnées doivent être spécifiés.

Il est recommandé de soumettre moins de 10 Mb de régions par fichier.

Liste de régions génomiques humaines pour l'analyse de CNVs : *CNVRegionList*

Ce formulaire doit être utilisé pour une analyse de variation du nombre de copies (CNV).

Le chromosome et la plage de coordonnées doivent être spécifiés.

Le nombre des sondes requises pour l'analyse doit être spécifié.

Une liste de marqueurs polymorphiques (SNPs et indels avec des rs IDs) peut être incluse optionnellement.

Pour plus d'information

Bureau de gestion des clients

Frédéric Robidoux, B.Sc.
Sharen Roland B.Sc.
Philippe Daoust M.Sc.

Téléphone : 514-398-7211
Courriel : infoservices@genomequebec.com