

SAMBO : Biobanking et extraction automatisée d'ADN de microbiotes

Christian MORABITO¹

CORRESPONDANCE

christian.morabito@inrae.fr

Explorer les milliards de bactéries qui peuplent la flore intestinale - ou microbiote - de l'homme et de l'animal à des fins préventives, thérapeutiques et de nutrition : tel est l'enjeu du centre INRAE MetaGenoPolis (MGP), créé en 2012 et financé par le Programme des Investissements d'Avenir. L'expertise de MGP dans l'analyse du microbiome intestinal et de ses implications en matière de santé et de nutrition est largement reconnue dans la communauté scientifique internationale depuis 2010. MGP propose à ses partenaires d'étudier leurs questions par le biais de deux pipelines : la métagénomique quantitative, qui consiste à analyser et modéliser la diversité et la composition des microbiotes complexes, et la métagénomique fonctionnelle qui recherche des bactéries inconnues en vue de découvrir de nouveaux composés bioactifs. Ces activités s'articulent autour de 4 plateformes technologiques innovantes, dont Sambo.

Le microbiote intestinal est constitué de l'ensemble des micro-organismes vivants (archées, bactéries, eucaryotes, virus...) qui peuplent l'intestin. Il peut être considéré comme un véritable organe ayant co-évolué avec son hôte dans une relation symbiotique équilibrée, contribuant à l'homéostasie physiologique dite « eubiose ». L'avancée des recherches sur le microbiote intestinal montre à quel point cet équilibre semble être un facteur majeur pour la bonne santé d'un individu. Le déséquilibre du microbiote intestinal ou dysbiose serait au contraire associé à l'apparition de différentes pathologies chroniques.

¹ Université Paris-Saclay, INRAE, MGP, 78350, Jouy-en-Josas, France.

Description de la plateforme SAMBO

Sambo vise à créer une biobanque nationale constituée de plus d'un million d'échantillons intestinaux humains, en mesure de répondre à la demande croissante issue d'essais cliniques et de grandes cohortes épidémiologiques et nutritionnelles.

Il est le point d'entrée du pipeline de métagénomique quantitative de l'unité MGP. Ses missions consistent à :

- Expliquer aux partenaires les bonnes pratiques de collecte des échantillons, suivant les recommandations des standards internationaux IHMS (<http://www.microbiome-standards.org/>) que l'unité a contribué à élaborer.
- Réceptionner les échantillons collectés et de les conditionner de sorte à les stocker dans la biobanque de l'unité, d'une capacité de 600 000 échantillons, qui est gérée par le personnel de la plateforme.
- Réaliser une extraction d'ADN de la meilleure qualité possible pour ces échantillons, de façon à obtenir des molécules d'ADN à haut poids moléculaire, qui permettront de générer des séquences fiables (suivant les recommandations IHMS mentionnées ci-dessus).
- Développer de nouvelles applications qui permettent de diversifier le champ des possibles de l'unité et la prise en charge d'échantillons toujours plus nombreux et variés.

Pour réaliser ces missions, SAMBO s'est doté d'un laboratoire confiné de type P2 ainsi que de trois automates : une biobanque automatisée à - 80 °C, un robot de purification d'ADN et enfin, un robot de pipetage et de quantification.

Chaîne de robots de la plateforme SAMBO

Biobanque (Figure 1)

Après conditionnement en tubes ou boîtes compatibles, les échantillons reçus sont positionnés dans le magasin (1) de la biobanque. Une nacelle située à l'intérieur de la machine (a) vient chercher les échantillons pour les positionner dans un scanner qui identifie les codes-barres des tubes, boîtes et plaques (2), puis dans un module de picking (3 et b) où ils seront réorganisés sur de larges racks à haute densité. Ils sont ensuite déposés dans un espace de stockage à - 80 °C (c). Toute l'opération est pilotable à distance. La biobanque est sécurisée par un doublement des systèmes assurant le froid ainsi que par une cuve d'azote liquide de secours et d'onduleurs.



Figure 1. Processus de stockage des échantillons dans la biobanque.

Robot de purification (Figure 2)

Les échantillons à extraire subissent une lyse thermique, chimique et mécanique selon une méthode manuelle issue des standards IHMS. Les lysats générés sont pris en charge par le QIASymphony SP de la société QIAGEN, qui peut générer jusqu'à 96 purifications à la fois. Cet automate utilise la technique bien connue de purification avec des billes magnétiques ; brièvement, l'ADN contenu dans le lysat s'accroche à une suspension de billes magnétiques, qui sont ensuite retirées à l'aide d'un aimant et éluées dans un tampon. L'automate est composé d'un portoir pour les tubes de lysats (1), d'une tête de pipetage (2), de portoirs pour racks de cônes (3), d'un emplacement pour cartouches de réactifs (4), d'un plateau de travail équipé de têtes aimantées (5), d'un espace pour consommables de travail (6) et enfin, d'un portoir à plaques au format SBS (7).



Figure 2. Automate de purification QIASymphony SP.

Robot de pipetage et de quantification (Figure 3)

Après purification de l'ADN, les échantillons produits en rack Matrix 96 tubes peuvent être quantifiés par fluorimétrie en utilisant le robot de pipetage Biomek 4000 (Beckman Coulter), couplé à un lecteur en plaque Filtermax (Molecular De-

vices), avant mise à disposition de la plateforme MetaQuant de MGP pour séquençage. Cet automate peut également transférer les échantillons en plaques PCR pour envoi au partenaire ou à son prestataire externe de séquençage si nécessaire. Le robot est composé d'un plateau de travail (1), d'un boucheur-déboucheur de tubes (2), d'un fluorimètre en plaque (3) d'un bras de pipetage avec plusieurs têtes (4) et d'un lecteur de code-barres en plaque (5).

Perspectives

SAMBO souhaite augmenter sa force de frappe en inaugurant, début 2022, un nouveau pipeline totalement automatisé dit « haut débit » pour l'extraction d'ADN. Ce pipeline s'appuierait sur deux nouvelles machines de pipetage et d'extraction, soutenues par du petit équipement et par le Biomek 4000. L'objectif est de permettre de traiter des projets à grand volume d'échantillons (plusieurs milliers, voire dizaines de milliers) avec une capacité de 96 extractions par jour, soit 6 fois plus que le pipeline standardisé actuel. Les 2 pipelines, le nouveau et l'ancien, cohabiteraient sur la plateforme. ■



Figure 3. Automate de pipetage et de quantification Biomek 4000.



Cet article est publié sous la licence Creative Commons (CC BY-SA). <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>

Pour la citation et la reproduction de cet article, mentionner obligatoirement le titre de l'article, le nom de tous les auteurs, la mention de sa publication dans la revue « NOV'AE », la date de sa publication et son URL.