



Capture de gènes par hybridation pour l'exploration de la diversité génomique : des fossiles aux organismes modernes

9 mai 2016 Paris (France)

Le 9 mai 2016 10-17h

Amphithéâtre de la Grande Galerie de l'Evolution

[Muséum national d'Histoire naturelle](#)

36 Rue Geoffroy-Saint-Hilaire, 75005 Paris

La journée "**Capture de gènes par hybridation pour l'exploration de la diversité génomique : des fossiles aux organismes modernes**" est organisée sous l'égide du [GDR Génomique Environnementale](#) pour permettre aux chercheurs des institutions françaises travaillant dans les domaines de **l'écologie, de l'évolution, de l'exploration de la biodiversité et du fonctionnement des écosystèmes** d'échanger sur cette nouvelle approche de génomique et ses multiples mises en pratiques et applications afin de partager compétences et expériences.

Au cours de cette journée, seront abordés les aspects techniques et les applications de la capture de gènes sur tous types d'organismes et d'écosystèmes. Ainsi, un éclairage sera apporté sur les avancées technologiques en lien avec le séquençage massif et les développements bioinformatiques, les résultats majeurs et les perspectives de la technologie de capture dans le cadre de nombreux domaines tels que l'étude de **l'adaptation/sélection** et évaluation du fardeau, la **phylogénomique**, la **phylogéographie**, la **paléogénomique**, la **génomique**, la **metagénomique** et la **métatranscriptomique**.

PROGRAMME

10 h 00 - 10 h 15 Accueil Grand Amphithéâtre

10 h 15 - 10 h 45 **Régis Debruyne**. Stratégies expérimentales alternatives en capture ciblée appliquée à la génomique et la post-génomique.

10 h 45 - 11 h 00 **Cédric Mariac**. Evaluation et optimisation d'une méthode d'enrichissement de bibliothèques NGS par capture.

11 h 00 - 11 h 15 **David Royet**. Magnetic in situ Hybridization a complementary approach for investigating microbial diversity.

11 h 15 - 11 h 45 **Cyrielle Gasc**. Capture de gènes par hybridation pour l'exploration ciblée d'échantillons métagénomiques.

11h45- 12h05 Pause café

12 h 05 - 12 h 20 **annulé**

12 h 20 - 12 h 35 **Laure Franqueville**. Genefish : un outil innovant pour la capture de gènes ciblés dans les métagénomiques.

12 h 35 - 12 h 50 **Christine Cagnon**. Caractérisation d'un intégron au sein d'un métagénome environnemental par une approche de capture de gènes par hybridation.

12 h 50 - 13 h 05 **Roland Marmeisse**. Exploration de la diversité fonctionnelle des communautés microbiennes eucaryotes par capture d'ADNc de sol.

Pause méridienne

14 h 30 - 15 h 00 **Astrid Cruaud**. Retour d'expérience sur la capture d'exons pour la phylogénie des insectes pollinisateurs des figiers (Hymenoptera, Agaonidae).

15 h 00 - 15 h 15 **Mark Phuong**. Range stability predicts lineage persistence in morphologically cryptic ground squirrel lineages.

15 h 15 - 15 h 45 **Jérôme Salse**. De l'évolution ancienne à l'adaptation et sélection récente des espèces modernes.

15 h 45 - 16 h 00 **Emeline Deleury**. Evolution du fardeau génétique au cours des invasions biologiques.

16 h 00 – 16 h 15 **Armel Salmon**. Détection des homéologues au sein des génomes polyploïdes par Capture de Séquence: applications chez le cotonnier (*Gossypium hirsutum*) et les spartines (*Spartina* sp).

16 h 15 – 16h45 **Thierry Grange**. NGS for paleogenetics: sequence capture vs multiplex PCR.

17 h 00 Clôture

RESUMES

Stratégies expérimentales alternatives en capture ciblée appliquée à la génomique et la post-génomique

Debruyne Régis

Muséum National d'Histoire Naturelle, UMS 2700
Outils et Méthodes de la Systématique Intégrative (OMSI)

Résumé

L'essor actuel des méthodes d'enrichissement ciblé par et capture par hybridation (en abrégé « target capture ») est lié au double constat que :

- 1- les approches d'amplification individuelle et séquençage ciblé telles qu'elles ont été mises en œuvre depuis l'avènement du couple PCR/Sanger ne sont pas efficaces dans l'environnement redessiné des NGS où l'analyse des banques se fait par parallélisation massive du séquençage, indifféremment du fragment génomique ;
- 2- il n'est ni évident ni même souvent pertinent de séquencer et d'assembler le génome complet des organismes pour répondre à des questions biologiques précises et/ou génétiquement identifiées.

Le fonctionnement global des approches de target capture est très similaire et implique une première phase d'hybridation avec des sondes généralement rendues magnétiques par biotinylation, suivie d'une phase d'enrichissement spécifique par soustraction des molécules non capturées lors de la phase d'hybridation. Ces méthodes diffèrent néanmoins dans leurs modalités précises de mise en œuvre et leurs particularités de ciblage permettent de répondre à des objectifs scientifiques variés.

Cette communication vise donc à présenter les principales familles de méthodes en target capture et à préciser leur cadre d'application opérationnel en génomique comparative et post-génomique. Elle décrira les avantages et inconvénients respectifs des approches de capture en phase solide et en solution du commerce ainsi que des alternatives non commerciales. Plusieurs applications expérimentales seront présentées en phylogénomique, génomique des populations, métagénomique, paléogénomique et épigénomique, démontrant le large éventail opérationnel de ces méthodes.

Evaluation et optimisation d'une méthode d'enrichissement de bibliothèques NGS par capture.

Mariac Cédric

Diversité, adaptation, développement des plantes (IRD - DIADE)
Institut de recherche pour le développement (France)

Résumé

L'objectif principal des méthodes d'enrichissement par capture combinées aux approches NGS est de réduire l'effort de séquençage. La production (home made) ou la synthèse (solutions commerciales) de sondes permettant la capture de cibles prédéfinies sur des bibliothèques NGS peut représenter un investissement temps/cout important. L'évaluation de ce bénéfice pas toujours documenté dans la littérature révèle toutefois son intérêt. Au cours de cet exposé je présenterai les résultats d'enrichissement obtenus par capture à l'aide de sondes ARN biotinylées (MYbaits, MYcroarray) sur 3 espèces : *Pennisetum glaucum* (300 gènes), *Digitaria* ssp. (3000 gènes) et *Raphia* ssp. (176 gènes).

Le choix des cibles, la définition des sondes, les résultats en termes d'efficacité de la méthode (% de reads on-target, Xfold enrichment, couverture des cibles) ainsi que les possibilités de multiplexage en capture seront discutés et comparés à ceux généralement obtenus avec cette méthode. Quelques analyses génétiques sur *Pennisetum glaucum* et *Digitaria* seront brièvement présentées pour illustrer la portabilité intra et interspécifique et son application à des études de diversité ciblées.

Magnetic in situ Hybridization a complementary approach for investigating microbial diversity

Royet David¹, Frénéa-Robin Marie², Simonet Pascal¹

¹ Ecole Centrale de Lyon (ECL) (France)

² Université Claude Bernard (France)

Résumé

When specifically applied to soil ecosystems, metagenomics is strongly compromised by methodological biases including for bacterial DNA extraction and purification. In addition, even the highest throughput sequencing techniques lack sensitivity to consider the less abundant taxa, the rare biosphere and the lysis recalcitrant bacteria. A more in depth exploration of the enormous bacterial diversity in soil requires completing culture- and metagenomics- based techniques by complementary approaches. We propose here a new concept in which the soil microbial diversity is tackled by the successive study of specific bacterial populations after their cells were separated from the rest of the nycodenz extracted soil microbiota. 16S rRNA probes designed to target specific taxa are labeled with magnetic nanoparticles and used to hybridize the cell suspension before the magnetically labeled population is separated on a micro-magnet network inside a microfluidic device. We will present the potential of the approach in terms of sensitivity and specificity determined under controlled experimental conditions. The first results of its application to trap and to extract some non-cultivable indigenous soil bacterial populations in order to sequence their DNA and reassemble/reconstruct their genomes will also be presented and discussed.

Capture de gènes par hybridation pour l'exploration ciblée d'échantillons métagénomiques

Gasc Cyrielle, Peyret Pierre

EA 4678 CIDAM, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand (France)

Résumé

Les micro-organismes représentent la forme de vie la plus diverse et abondante sur terre, et grâce à leurs capacités métaboliques variées, ils jouent un rôle majeur dans le fonctionnement des écosystèmes. Cependant, la caractérisation des communautés microbiennes demeure difficile par le manque d'outils permettant d'associer la structure aux fonctions réalisées. En effet, les approches par amplicons (barcoding), en ne ciblant qu'un ou quelques biomarqueurs, ne permettent pas de lier l'identité des micro-organismes présents aux fonctions qu'ils réalisent. Les approches de séquençage direct sans *a priori* (métagénomique) permettent un inventaire exhaustif de gènes, mais du fait de la complexité des données générées, le plus souvent, seuls les génomes des microorganismes les plus abondants peuvent être reconstruits. Enfin, les approches de la cellule isolée (single cell) facilitent la reconstruction des génomes mais ne permettent pas une description exhaustive des communautés et restent difficiles à mettre en œuvre.

Pour dépasser ces limites, nous avons développé une approche innovante de capture de gènes par hybridation permettant de réduire la complexité des échantillons métagénomiques et ainsi d'explorer de façon ciblée les communautés microbiennes.

Appliquée à des échantillons complexes métagénomiques ou métatranscriptomiques, la capture de gènes par hybridation permet de mettre en évidence toute la diversité des biomarqueurs ciblés et de révéler de nouveaux variants, parfois rares, grâce à l'utilisation de sondes exploratoires mais aussi grâce à l'extrême sensibilité de la méthode. La capture de gènes permet également la reconstruction des biomarqueurs complets et de leurs régions flanquantes, facilitant ainsi la découverte de nouveaux gènes et de nouvelles organisations géniques. Enfin, appliquée à la capture de grands fragments d'ADN de plusieurs dizaines de kb, cette approche permet de reconstruire de larges portions chromosomiques et des plasmides complets portant le ou les biomarqueurs ciblés. Il est ainsi possible d'associer les identités des micro-organismes aux fonctions qu'ils réalisent contribuant en une meilleure compréhension du rôle des communautés microbiennes au sein des écosystèmes.

Genefish : un outil innovant pour la capture de gènes ciblés dans les métagénomes

Franqueville Laure

Environmental Microbial Genomics Group, Laboratoire Ampère (CNRS, UMR5005, INRA, USC1407) - INRA – Ecole Centrale de Lyon, Université de Lyon (France)

Résumé

La métagénomique permet de déceler et décrypter l'immense réservoir de diversité que constituent les microorganismes présents dans l'environnement grâce au développement continu de méthodes toujours plus performantes telles que le séquençage haut débit. A présent, ces technologies génèrent une quantité illimitée de séquences nucléotidiques dont le déchiffrement reste toutefois encore complexe. Un outil alternatif aux méthodes conventionnelles de la métagénomique, appelé Genefish, a été développé dans le but d'accéder directement à des séquences d'ADN recherchées dans un métagénome. Son principe est fondé sur la recombinaison homologue de séquences ciblées dans l'ADN métagénomique survenant dans la souche Genefish, suivie de la sélection positive des clones recombinants, en vue de la capture et de l'exploration de la diversité génétique de gènes d'intérêt. La faisabilité de l'outil a été testée dans le cadre d'un gène ubiquitaire impliqué dans la respiration anaérobie des bactéries du sol : le gène narG dont des courtes séquences conservées ont été clonées, jouant le rôle d'hameçons, dans le plasmide de capture de la bactérie *E. coli* ainsi construite. La sélection des clones recombinants est ensuite assurée par leur capacité à se développer sur un milieu de culture spécifiquement élaboré pour induire l'expression de gènes toxiques qui détruisent les cellules non transformées. Les étapes d'ingénierie moléculaire de la souche seront décrites au préalable des résultats de validation de la technologie Genefish, obtenus en condition *in vitro*.

Caractérisation d'un intégron au sein d'un métagénome environnemental par une approche de capture de gènes par hybridation

Abella Justine¹, Defois Clémence², Gasc Cyrielle², Parisot Nicolas², Bernard Auriane², Bouchez Olivier³, Cravo-Laureau Cristiana¹, Duran Robert¹, Peyret Pierre², Cagnon Christine¹

¹ Equipe Environnement et Microbiologie - IPREM UMR CNRS 5254 - Université de Pau et des Pays de l'Adour – IBEAS - UFR Sciences (France)

² CIDAM – Université d'Auvergne - Clermont-Ferrand I (France)

³ GenPhySE, Université de Toulouse, INRA, INPT, INP-ENVT (France)

Résumé

Bien que particulièrement impliqués dans le transfert de gènes dans les contextes hospitaliers, les intégrons (structures génétiques bactériennes), ne sont aujourd'hui que très peu étudiés dans le cadre de contaminations chimiques en milieu naturel. Lors d'une étude de ces intégrons environnementaux au sein d'un sédiment côtier pollué par du pétrole, nous avons mis en évidence, par amplification d'une portion du gène d'intégrase *intI*, un intégron non décrit jusqu'alors dont l'abondance augmente après la contamination. L'isolement de souches portant ce gène à partir des sédiments restant infructueux, nous avons appliqué une approche de capture de gènes par hybridation afin de caractériser cet intégron et son environnement génétique directement à partir de l'ADN total extrait des sédiments contaminés.

Les premiers résultats ont permis non seulement d'obtenir la séquence entière du gène *intI*, mais aussi d'accéder aux premières cassettes de gènes potentiellement liées aux adaptations récentes. La région en amont de l'intégron a également été capturée révélant une partie de son environnement génétique. Ces résultats permettent une avancée importante pour la compréhension des mécanismes de mobilisation adaptative des intégrons bactériens dans un contexte de pollution.

Exploration de la diversité fonctionnelle des communautés microbiennes eucaryotes par capture d'ADNc de sol.

Bragalini Claudia^{1,2}, Ribière Céline³, Adamo Martino^{1,2}, Parisot Nicolas^{3,4}, Peyretailade Eric³, Vallon Laurent², Peyret Pierre³, Girlanda Mariangela¹, Luis Patricia², Marmeisse Roland²

¹ Dpt des Sciences de la Vie et Biologie des Systèmes, Université de Turin (Italie)

² Ecologie microbienne (EM), INRA UMR 1418, CNRS UMR 5557

Université Claude Bernard Lyon I Villeurbanne (France)

³ Conception, Ingénierie et Développement de l'Aliment et du Médicament (CIDAM)

Université d'Auvergne – Clermont-Ferrand I (France)

⁴ Biologie Fonctionnelle, Insectes et Interactions (BF2I), INRA 0203, INSA Lyon (France)

Résumé

Les microorganismes eucaryotes du sol, et plus spécifiquement les champignons, jouent des rôles essentiels au bon fonctionnement de cet écosystème. Ils sont notamment responsables de la dégradation des litières végétales, étape clé du cycle du carbone en milieu terrestre permettant la remobilisation d'éléments nutritifs essentiels (N, P) piégés dans cette biomasse. La dégradation de la matière organique d'origine végétale est essentiellement assurée par des enzymes sécrétées (cellulases, hémicellulases, peroxydases, protéases...) qui trouvent aussi de nombreuses applications dans divers secteurs industriels (alimentaire, pâtes à papier, bioraffineries...).

Afin d'explorer la biodiversité fonctionnelle des communautés fongiques, nous avons mis en place une approche de piégeage de séquences à partir d'ADNc issus des ARNm polyadénylés eucaryotes extraits directement de sol (métatranscriptomique). La capture utilise des sondes oligonucléotidiques exploratoires pour assurer l'évaluation complète de la diversité des enzymes ciblées. A la différence du « métabarcoding » par amplification PCR de gènes codants, le piégeage d'ADNc codant des enzymes hydrolytiques permet de récupérer des séquences géniques entières. Cette approche présente donc le double intérêt de permettre (i) d'évaluer la diversité génique d'une communauté fongique et (ii) de tester la fonctionnalité des enzymes codées par expression des gènes dans un hôte microbien comme la levure.

Retour d'expérience sur la capture d'exons pour la phylogénie des insectes pollinisateurs des figiers (Hymenoptera, Agaonidae)

Astrid Cruaud, Sabine Nidelet, Jean-Yves Rasplus

INRA, UMR1062 CBGP, F-34988 Montferrier-sur-Lez

Résumé

Pour résoudre les premiers événements de divergence au sein de certains groupes d'insectes il semble judicieux d'analyser des portions conservées de génome que l'on aurait capturées par hybridation sur des sondes spécifiques.

Dans notre expérience, nous avons tenté de capturer environ 1500 exons sur 56 espèces d'Hyménoptères pollinisateurs de figiers grâce aux sondes dessinées par Faircloth et al. (2015).

Nous présenterons les principales étapes du protocole que nous avons utilisé et les solutions que nous avons apportées aux problèmes rencontrés (e.g. degré de multiplexage, reconcentration des librairies etc.). Nous présenterons également brièvement la méthodologie utilisée pour analyser les données et inférer une phylogénie des espèces étudiées : filtrage qualité des reads (`fastq_illumina_filter`), démultiplexage, trimming (`adapter_removal`) et assemblage (CAP3) suivi d'un alignement des exons homologues (Geneious) et d'une inférence d'arbre (RAxML)

Référence citée :

Faircloth, B.C., Branstetter, M.G., White, N.D., S.G., B., 2015. Target enrichment of ultraconserved elements from arthropods provides a genomic perspective on relationships among Hymenoptera. *Mol. Ecol. Resour.* 15, 489-501.

Range stability predicts lineage persistence in morphologically cryptic ground squirrel lineages

Mark Phuong

MNHN - UMR 7205 - Institut de Systématique, Évolution, Biodiversité

Résumé

The processes responsible for patterns of mitonuclear discordance remain unclear. Here, we employ an exon capture dataset, demographic methods, and species distribution modeling to elucidate the impact of historical demography on patterns of genealogical concordance and discordance in ground squirrel lineages from the *Otospermophilus beecheyi* species complex. Previous studies in *O. beecheyi* revealed three morphologically cryptic and highly divergent mitochondrial DNA (mtDNA) lineages (named the Northern, Central, and Southern lineages based on geography) with only the Northern lineage exhibiting concordant divergence in nuclear markers. We show that these mtDNA lineages likely formed in allopatry during the Pleistocene, but responded differentially to climatic changes that occurred since the last interglacial (~120,000 years ago).

We find that the Northern lineage maintained a stable range throughout this period, correlating with genetic distinctiveness among all genetic markers and low migration rates between the other lineages. In contrast, our results support a scenario where the Southern lineage expanded from Baja California Sur during the Late Pleistocene and hybridized with the Central lineage, eventually driving the Central lineage to extinction. While high intraspecific gene flow among newly colonized populations eroded significant signals of Central ancestry from autosomal markers, male sex-biased dispersal in this system preserved signals of this past hybridization and introgression event in matrilineal-biased X-chromosome and mtDNA markers.

Our results highlight the importance of range stability in maintaining the persistence of phylogeographic lineages, whereas unstable range dynamics can increase the tendency for lineages to interact and collapse upon secondary contact.

De l'évolution ancienne à l'adaptation et sélection récente des espèces modernes

Salse Jérôme

UMR 1095 Genetics, Diversity and Ecophysiology of Cereals (GDEC)
Paleogenomics & Evolution Research Group (PaleoEvo)
Clermont-Ferrand (France)

Résumé

During the last decade, technological improvements led to the development of large sets of plant genomic resources permitting the emergence of high-resolution comparative genomic studies and ultimately unveiling the evolution of modern angiosperm over the last 400 million years of evolution from reconstructed *in silico* ancestors made of 7 chromosomes and containing 10K protogenes. Modern plants have been shaped from these ancestors through genome shuffling events such as translocations, fusions, fissions, deletions and duplications. The plant genomes then appear very plastic at the structural genomics level during evolution in contrast to mammal genomes, more stable.

In order to investigate how such ancient plasticity (macro-evolutionary scale) has been mobilized in a more recent history (micro-evolutionary scale) to face environmental constraints, we have been using the reconstructed ancestors to capture the ancestral gene space in several plant species for both archaeobotanical remains (*i.e.* allochronic approach capturing genomic variations on their way towards adaptation) as well as extant populations (*i.e.* synchronic approach capturing genomic variations fixed by selection). Ultimately these genomic signatures of adaptation allow identifying key genes/alleles that could be used in modern plant conservation and breeding programmes in the context of the ongoing and future climate change.

Salse (2016) Ancestors of modern plant crops. *Curr Opin Plant Biol.* 30:134-142.

Evolution du fardeau génétique au cours des invasions biologiques

Deleury Emeline¹, Guillemaud Thomas¹, Blin Aurélie¹, Legeai Fabrice²,
Sappington Thomas W.³, Miller Nichola⁴, Vogel Heiko⁵, Facon Benoit⁶,
Estoup Arnaud⁶, Lombaert Eric¹

¹ Institut Sophia-Agrobiotech (UMR ISA, INRA, UNSA, CNRS 1355-7254) Nice Sophia Antipolis

² Institut de Génétique, Environnement et Protection des Plantes, Rennes (France)

³ Iowa State University (États-Unis)

⁴ University of Nebraska (États-Unis)

⁵ Max Planck Institute for Chemical Ecology (Allemagne)

⁶ Centre de Biologie pour la Gestion des Populations (UMR CBGP) INRA, CIRAD, IRD, Montpellier (France)

Résumé

Pourquoi des invasions biologiques « réussissent » ou non est un sujet de débat intense chez les biologistes. Parmi les hypothèses les plus intéressantes, on trouve celle de la purge (i.e. l'élimination) des mutations délétères lors du processus d'introduction. L'accumulation des mutations délétères (le fardeau génétique) au cours du temps a pour conséquence une baisse de valeur sélective des individus. L'hypothèse de purge propose qu'après l'introduction d'un faible nombre d'individus dans la future aire envahie, les niveaux de consanguinité et de dérive sont élevés et peuvent conduire à la purge des mutations délétères, conférant à la population introduite un avantage évolutif.

Jusqu'à présent, seule la mesure des traits d'histoire de vie était envisagée pour tester de façon partielle cette hypothèse. Aujourd'hui, avec l'essor des NGS, le séquençage complet d'exomes ou de transcriptomes d'individus permet théoriquement de comparer sur n'importe quelle espèce la fréquence des mutations délétères entre populations. Nous proposons de tester l'hypothèse de purge sur deux espèces non-modèles d'insectes envahissants et d'intérêt agronomique (la chrysomèle des racines du Maïs *Diabrotica virgifera virgifera* et la coccinelle asiatique *Harmonia axyridis*), en utilisant la capture d'exome qui n'est pour l'instant utilisée (avec succès) que chez quelques modèles biologiques très particuliers (principalement l'homme). Les objectifs sont méthodologiques et conceptuels: (i) mise au point et optimisation d'une méthode de capture d'exomes à partir du transcriptome d'espèces non-modèles; (ii) développement de méthodes d'analyse génériques permettant de comparer le fardeau génétique présent au sein de différentes populations d'une même espèce; (iii) et aborder l'hypothèse de la purge génétique au cours des invasions biologiques sur deux modèles biologiques. En cas de succès, cette hypothèse sera testée à grande échelle en situation d'invasion (sur 15-20 espèces). Plus largement, les données de polymorphisme des régions codantes constituent une source d'information primordiale pour toute question liée aux pressions de sélection.

Détection des homéologues au sein des génomes polyploïdes par capture de séquence: applications chez le cotonnier (*Gossypium hirsutum*) et les spartines (*Spartina* sp).

Salmon Armel¹, Rousseau Hélène¹, Boutte Julien¹, Lima Oscar¹,
Rousseau-Gueutin Mathieu², Wendel Jonathan³, Ainouche Malika¹

¹ UMR CNRS 6553 ECOBIO - Université de Rennes 1 (France)

² UMR INRA 1349 IGEPP (France)

³ Iowa State University (États-Unis)

Résumé

La spéciation allopolyploïde (par hybridation interspécifique suivie d'une duplication entière des génomes) est aujourd'hui reconnue comme un mécanisme majeur de la diversification des angiospermes et diverses études reportent son impact sur les modifications de structure et d'expression des génomes parentaux. Ces mécanismes en réponse à l'hybridation entre deux génomes et à leur duplication comprennent la perte de matériel génétique, des réarrangements chromosomiques, des modifications des marques épigénétiques ou encore une expression biaisée des génomes parentaux (ou homéologues). Ce mode de spéciation résultant en une redondance de l'information génétique, le sort des copies dupliquées est d'un intérêt particulier d'un point de vue évolutif. En effet, ces duplications peuvent être l'objet de divers processus évolutifs en réponse à cette redondance, les contraintes sélectives pouvant être relâchées sur l'une des copies. Cette redondance peut mener à la perte structurale ou fonctionnelle (par pseudogénéisation) d'une des copies ou à une diversification fonctionnelle par compartimentation de l'expression des copies homéologues, ou par acquisition et sélection de nouvelles fonctions. Ces mécanismes de diversification peuvent être compensés (à l'échelle du génome entier) par des mécanismes de maintien des copies homéologues et/ou d'homogénéisation des copies (comme pour les gènes ribosomiques) qui résultent de recombinaisons homéologues non-réciproques entre duplicats.

Afin d'étudier le devenir des copies de gènes homéologues, nous avons développé des approches de captures de séquences de gènes d'intérêt pour l'étude de deux espèces polyploïdes récemment formées: *Spartina anglica*, pour l'étude des causes de son potentiel invasif et les cotonniers tétraploïdes (*Gossypium* sp) dans le cadre de leur domestication. Nous présenterons les stratégies de définition des sondes de capture permettant l'enrichissement en copies homéologues, et les méthodes bioinformatiques développées au sein de notre laboratoire afin de détecter ces copies.

NGS for paleogenetics: sequence capture vs multiplex PCR

Massilani D., Guimaraes S., Pruvost M., Daligault J., Bennett, E.A.,
Geigl E. -M., Grange T.

Epigenome & Paleogenome, Institut Jacques MONOD, UMR7592, CNRS
University Paris Diderot, Paris 13 (France)

Résumé

NGS has boosted the study of traces of ancient DNA in archaeological and museum specimens, thus enabling the reconstruction of recent evolutionary paths from archeological and paleontological specimens, the direct witnesses of past events. The increase of throughput and the decrease of costs provided by next-generation-sequencing allow either the study of a limited number of markers from a large number of samples using multiplex PCR and sample barcoding, or of a larger number of genetic markers with a lower sample throughput using sequence capture. We have optimized these two strategies taking into account the specific properties of ancient DNA. We will compare them as well as the data that can be generated with either approach.