



Plant Health Institute Montpellier

# COMPTE - RENDU DE FORMATION

Ecole de Formation à la Recherche

FORMATION AU SEQUENCAGE DE MICRO-ORGANISMES PAR  
LA TECHNOLOGIE OXFORD NANOPORE

« De la préparation des échantillons à l'analyse des données »  
INERA, Laboratoire de virologie et de biotechnologie Végétale, Kamboinsé

& Université Ki-Zerbo ,Ouagadougou, Burkina Faso

12-16 Septembre 2022



## Comité d'organisation

**Martine Bangratz**, IRD, UMR PHIM, Montpellier

**P.Romuald Boua**, IRSS, Ouagadougou

**Isidore Bonkougou**, UJKZ/INSP, Ouagadougou

**Aurore Comte**, IRD, UMR PHIM, Montpellier

**Amadou Dicko**, IRSS, Ouagadougou

**Emmanuel Fernandez**, CIRAD, UMR PHIM, Baillarguet

**Denis Filloux**, CIRAD, UMR PHIM, Baillarguet

**K. Romaric Nanema**, UJKZ, Ouagadougou

**M. Edith. M Nikiema**, UJKZ, Ouagadougou

**Julie Orjuela**, IRD, UMR DIADE, Montpellier

**B. Ezechiel Tibiri**, INERA, Ouagadougou

**Fidèle Tiendrébéogo**, INERA, Ouagadougou

**Anas Sawadogo**, Univers Bio-Médical, Ouagadougou

**Issiaka Soulama**, IRSS, Ouagadougou

CIRAD : Centre de Coopération en Recherche Agronomique pour le Développement

DIADE : Diversité, adaptation et développement des plantes

INERA/CREAF : Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles

INSP : Institut National de Santé Publique

IRD : Institut de Recherche pour le Développement

IRSS : Institut de Recherche en Sciences de la Santé

LMI : Laboratoire Mixte Internationale

PHIM : Plant Health Institute Montpellier

UJKZ : Université Joseph Ki-Zerbo

UMR : Unité Mixte de Recherche

## **I. Contexte et objectifs**

L'université Joseph Ki-Zerbo et le Laboratoire Mixte International (LMI) PathoBios (INERA-IRD [www.pathobios.com](http://www.pathobios.com)) collaborent depuis plusieurs années pour le renforcement des capacités dans le domaine de la biologie moléculaire et de la bioinformatique. Ainsi, depuis la création en 2013 du LMI PathoBios, de nombreuses formations en biologie moléculaire, analyses sérologiques et protéiques ont été organisées pour le diagnostic des agents pathogènes au Laboratoire de Virologie et de Biotechnologie Végétale (LVBV) de l'INERA de Kamboinsé. Par ailleurs, un Projet Structurant de Formation (PFS) «BurkinaBioinfo» avait notamment permis l'organisation de plusieurs ateliers de formation en bioinformatique en parallèle du déploiement d'un cluster de calcul informatique à l'UJKZ. Dans la continuité de ces actions, cette formation a porté sur la Technologie Oxford Nanopore (ONT), qui propose des séquenceurs MinION permettant de répondre à la demande croissante du séquençage dans les pays du Sud. Son utilisation a déjà fait ses preuves en Afrique aussi bien dans le domaine des maladies humaines que dans la protection des végétaux.

Cette formation a été principalement financée par l'IRD dans le cadre d'un appel «Ecole de Formation à la Recherche»; avec un co-financement du programme WAVE «Central and West African Virus Epidemiology» (<https://wave-center.org/>). Elle a permis d'offrir une formation au séquençage de micro-organismes par ONT allant de la préparation des échantillons à séquencer jusqu'à l'analyse des séquences obtenues. Le montage de la formation a été mené de manière concertée entre les différents membres du comité d'organisation des différents instituts et coordonné par Ezechiel Tibiri au Burkina Faso et Martine Bangratz à Montpellier.

Elle s'adresse aux chercheurs, enseignants-chercheurs et aux doctorants des institutions de recherche et d'enseignement des pays d'Afrique de l'Ouest ayant des connaissances théoriques et pratiques en biologie moléculaire et une maîtrise de l'outil informatique (LINUX/GNU). Suite à un appel de candidature lancé en mai 2022, 10 dossiers ont été sélectionnés sur les 32 reçus. Les participants sont des doctorants et des chercheurs issus d'université ou d'instituts du Burkina Faso et des autres pays de la sous-région (Togo, Bénin, Niger, Mali).

Cette formation avait deux objectifs : 1/ de faire connaître cette nouvelle technologie de pointe ONT à l'ensemble de la communauté scientifique burkinabè et 2/ développer les compétences techniques nécessaires des participants à la production et à l'analyse de données.

## **II. Programme de la formation**

L'ouverture de la formation a débuté par une allocution des directeurs généraux de l'INSP, CNRST, UJKZ, le directeur du CREAM de Kamboinsé de l'INERA et la représentante du LMI Pathobios. Ensuite, une présentation générale de la technologie Nanopore et de ses applications, a été réalisée en visioconférence, par Lain MacLaren (directeur adjoint Marchés appliqués à ONT). Des échanges/discussions ont ensuite eu lieu concernant la mise en place de cette technologie au Burkina Faso (question éthique, besoins en termes de formations universitaires, en cluster de calculs, ...).

La formation s'est ensuite déroulée sous forme d'une école thématique d'une semaine comprenant des séminaires, des travaux pratiques et des travaux dirigés. Nous avons préparé des banques à partir de trois échantillons de feuilles de plantes (patate douce et canne à sucre) infectées par des virus.



Lancement officiel de la formation

Jour 1	<b>Lundi 12 septembre 2022</b> Amphithéâtre de l'UJKZ
<b>Cérémonie officielle de lancement de la formation</b>	
07h00 -8h00	Arrivée et enregistrement des participants
8h00 – 9h00	Lancement officiel <ul style="list-style-type: none"> <li>- Public : Autorités politiques (Ministre de tutelle...), Autorités académiques et de recherches (Président UJKZ, DG CNRST, représentant IRD, représentant CIRAD), Enseignant.e.s et chercheur.e.s, Partenaires privés (Univerbio...), Participant.e.s, Etudiant.e.s</li> </ul>
9h00 – 10h00	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Allocutions des officiels</li> <li>- Interviews de presse et photos</li> </ul>
10h – 13h00	<b>Présentation de la Technologie Oxford Nanopore</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Présentations de la technologie (1h) : <ul style="list-style-type: none"> <li>o Application ONT sur les agents pathogènes de plantes (virus)</li> <li>o Application ONT sur le SARS-CoV-2 et autres virus émergents en Afrique</li> <li>o Application sur le séquençage et l'annotation des génomes complets de plantes</li> <li>o Application ONT en épigénétique et cancer chez l'homme</li> <li>o Discussions (30mn)</li> </ul> </li> <li>- Panel (1h30)</li> </ul>
13h – 14h30	Pause déjeuner
14h30 – 18h	Présentations : Quel Kit utilisé pour séquençer quoi ? Comment prépare-t-on une banque ? Présentation des travaux pratiques et du kit pour la préparation de la banque cDNA-PCR « SQK-PCS109 »
Jour 2	<b>Mardi 13 septembre 2022</b> <i>Laboratoire de virologie et de biotechnologie végétale, LMI PathoBios, Kamboinsé (CREAF-K)</i>
8h30 – 12h	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Analyse des échantillons/dosage des ARN extraits de plantes infectées par des virus</li> <li>- Préparation des cDNA</li> <li>- Amplification PCR</li> </ul>
14h – 17h30	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Purification des produits PCR</li> <li>- Dosage au Qubit</li> <li>- Visualisation sur gel d'agarose des amplicons générés</li> </ul>
Jour 3	<b>Mercredi 14 septembre 2022</b> <i>Laboratoire de virologie et de biotechnologie végétale, LMI PathoBios, Kamboinsé (CREAF-K)</i>
8h30 – 12h	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ligation des adaptateurs</li> <li>- Dépôts des banques sur Flongle et Flow cell</li> <li>- Lancement du séquençage sur séquenceurs MinION (Mk1B et MK1C)</li> </ul>
14h – 17h30	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Analyse préliminaire des résultats avec le logiciel EPI2ME-workflow FastqWIMP</li> <li>- Présentation des outils bioinformatiques</li> </ul>
Jour 4	<b>Jeudi 15 septembre 2022</b> <i>Plateforme de Bioinformatique de l'UJKZ</i>
8h – 12h	Analyses bioinformatiques <ul style="list-style-type: none"> <li>- Obtention des fastq (basecalling)</li> <li>- Evaluation qualitative du séquençage</li> <li>- Nettoyage des séquences</li> </ul>
14h -18h	Analyses bioinformatiques <ul style="list-style-type: none"> <li>- Alignement de séquences (mapping)</li> <li>- Analyse des résultats des alignements</li> </ul>
Jour 5	<b>Vendredi 16 septembre 2022</b> <i>Plateforme de Bioinformatique de l'UJKZ</i>
8h – 12h	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Analyses de variants</li> <li>- Evaluation des participants</li> </ul>
14h – 17h	Cérémonie de la formation <ul style="list-style-type: none"> <li>- Remise des attestations</li> <li>- Échanges avec les participants et les formateurs sur leurs activités de recherche et leurs projets</li> <li>- Fin de la formation</li> </ul>

Intervenants en biologie moléculaire : M. Bangratz et E. Fernandez

Intervenants en bioinformatique : A. Comte (à distance), D. Filloux, J. Orjuela et E. Tibiri



Travaux pratiques au laboratoire



Séquençage en cours



Manipulation des étudiants pour la préparation des banques



Travaux dirigés en bioinformatique

### III. Conclusion et Perspectives

L'ensemble de la formation s'est très bien passée et a rencontré un vif succès. Les participants ont montré un réel intérêt pour les enseignements, en particulier les TP et TD. Les trois séquençages ont donné des résultats intéressants, avec par exemple jusqu'à trois virus différents détectés dans un des échantillons de patate douce et la quasi-totalité du génome d'un potyvirus, le SrMV (sorghum mosaic virus) présent dans l'échantillon de canne à sucre.

Un questionnaire (sous GoogleForms) a été rempli par les participants à la fin de la formation avec un double objectif d'évaluation des compétences acquises et retour/bilan de la formation par les participants. L'analyse des réponses des participants montre que la formation a répondu aux attentes bien qu'ils l'aient trouvée dense.

Cette formation a aussi été l'occasion d'échanges au sein du comité d'organisation de la formation sur les formations/activités futures qui pourraient être réalisées, à moyen et à long terme. En particulier, Fidèle Tiendrebeogo (Chercheur à l'INERA, Directeur pays de Wave "Central and West African Virus Epidemiology" au Burkina Faso), Romaric Nanéma (Directeur des affaires académiques de l'orientation et de l'information à l'Université Ki-Zerbo) et Isidore Bonkougou (Directeur du laboratoire central de référence) ont témoigné de l'impact de ce type de formation, avec des applications directes de séquençage sur leurs problématiques de recherche. Tous trois mettent en avant l'importance de la poursuite de telles actions pour le renforcement des capacités dans leurs différents instituts.