	<b>Prérequis pour l'analyse métagénomique ciblée (Illumina) – Envoi de produits PCR</b> (English version on page 2)	<b>Instruction</b>
		<b>Version : 31.03.2026</b>
		<b>Pages : 1/2</b>

**Ne jamais transmettre à la PGTB tout le stock d'ADN, seulement des aliquots.**

### Préparation des échantillons

⇒ A vos amorces spécifiques doivent être ajoutées des séquences universelles qui vont permettre lors d'une 2ème PCR l'hybridation des adaptateurs et index de séquençage.

Amplicon PCR Forward Primer = 5' **ACACTCTTCCCTACACGACGCTCTTCCGATCT**XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX 3'  
 5' **Séquence universelle 1 – Amorce spécifique Forward 3'**

Amplicon PCR Reverse Primer = 5' **GTGACTGGAGTTCAGACGTGTGCTCTTCCGATCT**XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX 3'  
 5' **Séquence universelle 2 – Amorce spécifique Reverse 3'**

⇒ Après avoir fait votre PCR, vérifier sur gel d'électrophorèse sa bonne amplification aux tailles attendues. Annoter votre gel comme ci-contre, en précisant :

- le type de marqueur de taille utilisé
- le nom des échantillons ou leur position sur la plaque
- la taille attendue des fragments



⇒ Pour le dépôt des échantillons en plaque, utiliser des plaques **PCR 96 puits, transparentes, jupées, non sécables**. Chaque plaque ne doit comporter **qu'une seule cible**. Si plusieurs cibles sont analysées dans le projet, les séparer dans des plaques différentes.

⇒ Identifier chaque plaque avec **l'acronyme du projet déclaré dans le formulaire projet** et un numéro de plaque : PROJET X – PLAQUE 1.

⇒ Déposer (au minimum) 25µL de produits PCR **en colonne**. Pour les contrôles de la PGTB, laisser sur chaque plaque un puit vide sur la ligne H : plaque1 = H1 ; plaque 2 = H2 etc. Si vous avez plus de 12 plaques, contacter la PGTB.

⇒ Thermosceller les plaques avec des films adaptés (attention à ne pas les déformer en chauffant trop) ou sceller les plaques avec des barrettes de capuchons compatibles. Si vous avez utilisé des capuchons, envelopper les plaques de parafilm pour maintenir les capuchons bien enfoncés.

### Dépôt ou envoi des échantillons

⇒ Compléter le [formulaire d'envoi des échantillons](#) pour déposer les échantillons à la PGTB ou pour les expédier par transporteur. La réception des colis est assurée de 9h à 17h30 du lundi au vendredi à l'adresse suivante :

**Plateforme Génome Transcriptome de Bordeaux**  
**Site INRAE - Bâtiment ARTIGA**  
**69 route d'Arcachon**  
**33612 CESTAS CEDEX France**

⇒ Pour un envoi par transporteur, placer des pains de glace au fond et sur les côtés d'un colis. Placer les plaques au centre en les intercalant avec du carton, afin d'éviter tout risque d'écrasement. Comblé tous les espaces vides avec du papier bulle ou du carton afin que les plaques soient bien calées dans le colis.

⇒ La PGTB vous informera par mail de la bonne réception de vos échantillons. **Tout échantillon ne respectant pas les conditions données par mail ou dans ces prérequis ne pourra être traité dans les délais annoncés. Un surcoût pourra être appliqué ou un nouvel envoi d'échantillon pourra être demandé.**



### Dépôt des plans de plaque


⇒ A réception du formulaire d'envoi des échantillons, vous recevrez un mail de la PGTB avec un lien pour accéder directement au fichier de dépôt de plans de plaque au nom du projet sur notre espace RESANA.

⇒ Cliquer sur le lien, le fichier de dépôt de plans de plaque s'ouvre dans votre navigateur web. Compléter les plans de plaque en suivant les indications données : **uniquement des lettres / chiffres / tiret du 6 / tiret du 8 sont autorisés**.

⇒ Vous pouvez copier/coller les plans de plaque en utilisant le raccourci clavier « Ctrl + V ».

⇒ **L'enregistrement du fichier est automatique, vous n'avez rien à faire**. Une fois tous les plans de plaque complétés, fermer le fichier en cliquant sur la croix en haut à droite.

	<b>Rédaction</b>	<b>Prescillia Alves Gomes - IE</b>	
	<b>Approbation</b>	<b>Zoé Delporte - AI</b>	

	<b>Prérequis pour l'analyse métagénomique ciblée (Illumina) – Envoi de produits PCR</b> (French version on page 1)	<b>Instruction</b>
		<b>Version : 31.03.2026</b>
		<b>Pages : 2/2</b>

**Never send the entire DNA stock to the PGTB, only aliquots.**

### Sample preparation

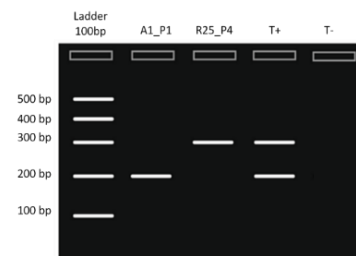
⇒ Universal sequences must be added to your specific primers to enable hybridization of adapters and sequencing indexes in a 2nd PCR.

Amplicon PCR Forward Primer = 5' **ACACTCTTCCCTACACGACGCTCTCCGATCT**XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX 3'  
5' **Universal sequence 1** – **Specific forward sequence 3'**

Amplicon PCR Reverse Primer = 5' **GTGACTGGAGTTCAGACGTGTGCTCTCCGATCT**XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX 3'  
5' **Universal sequence 2** – **Specific reverse sequence 3'**

⇒ After PCR, check on an electrophoresis gel that it is correctly amplified to the expected sizes. Annotate your gel as shown here by specifying:

- type of size marker used
- the name of the samples or their position on the plate
- the expected fragment size



⇒ To deposit DNA in plates, use **96-well PCR plates that are transparent, skirted and non-break-away**. Each plate should contain **only one target**. If several targets are being analyzed in the project, separate them into different plates.

⇒ Identify each plate with **the acronym of the project declared in the project form** and a plate number: PROJECT X – PLATE 1.

⇒ Dispense (at minimal) 25 µL of the PCR products **in columns**. For PGTB controls, leave an empty well on the H line of each plate (plate 1 = H1; plate 2 = H2, etc.). If you have more than 12 plates, contact PGTB.

⇒ Heat seal the plates with suitable films (be careful not to deform them by overheating) or seal the plates with compatible cap strips. If you have used caps, wrap the plates in parafilm to keep the caps firmly in place.

### Depositing or sending samples

⇒ Complete the [sample submission form](#) to deposit samples at the PGTB or to send them by courier. Parcels are received from 9:00 a.m. to 5:30 p.m., Monday to Friday, at the following address:

**Plateforme Génome Transcriptome de Bordeaux**  
**Site INRAE - Bâtiment ARTIGA**  
**69 route d'Arcachon**  
**33612 CESTAS CEDEX France**

⇒ For shipping by courier, place ice packs at the bottom and sides of the package. Place the plates in the centre, separating them with cardboard to prevent them from being crushed. Fill any empty spaces with bubble wrap or cardboard so that the plates are securely held in place in the package.

⇒ PGTB will notify you by email when your samples have been received. **Any samples that do not meet the conditions specified in the email or in these requirements cannot be processed within the stated time frame. An additional charge may be applied or a new sample shipment may be requested.**



### Sample plate information

⇒ Once we have received the sample submission form, you will receive an email from PGTB with a link to directly access the file for submitting plate designs for your project on our RESANA platform.

⇒ Click on the link and the plate plan submission file will open in your web browser. Complete the plate plans following the instructions provided: **only letters/numbers/hyphens and underscores are permitted**.

⇒ You can copy/paste the plate designs using the keyboard shortcut 'Ctrl + V'.

⇒ **The file is automatically saved, so you do not need to do anything**. Once all the plate designs have been completed, close the file by clicking on the cross in the top right-hand corner.

	<b>Rédaction</b>	<b>Prescillia Alves Gomes - IE</b>	
	<b>Approbation</b>	<b>Zoé Delporte - AI</b>	