



Biotecnologías Moleculares S.A. de C.V.

Insurgentes Sur 377 No 102. Col. Hipódromo Condesa.
Del. Cuauhtémoc CP 06100. Ciudad de México
Tel: 55 20963658 www.biotecmol.com.mx
RFC BM090911BP6

Ville de Mexico, le 5 septembre 2017

Lic. Jaime Maussan Flota
PRESENTE

Re: Résultats du processus de séquençage massif d'ADN ancien.

Cher Lic. Maussan,

Je vous informe par la présente de l'historique et de l'état du processus d'analyse génomique en cours sur des échantillons provenant de tissus différents de deux momies.

1.- Le 15 juin, 6 échantillons de 2 momies âgées d'environ 1500 ans de la région de Nazca au Pérou ont été reçus. Les échantillons reçus sont décrits dans le Tableau 1.

2.- Le 24 juin, l'ADN des 6 échantillons a été purifié. L'ADN a été obtenu dans des conditions stériles, minimisant les risques de contamination, conformément aux normes recommandées pour les échantillons archéologiques (Shapiro B, Heslington M. 2012). L'intégrité et la quantité totale d'ADN récupéré ont été déterminées. L'ADN présentait une plage de 8 000 paires de bases (pb) à 700 pb, obtenant de 8 µg à 0,5 µg.

Le tableau 2 montre la quantité récupérée de chaque échantillon et dans la figure 1, l'évaluation de la taille et de la quantité de l'ancien ADN obtenu.

3.- Le 27 juin, les échantillons 1, 3, 5 et 6 ont été sélectionnés parce qu'ils disposaient de la bonne quantité d'ADN à traiter et ils ont été remis au Dr. Alfredo Mendoza Vargas, responsable de l'unité Séquençage et identification des polymorphismes de l'Institut National de Médecine Génomique, de sorte que les échantillons ont été traités pour être lus dans un séquenceur massif (Illumina Myseq). Afin d'améliorer le succès du séquençage, il a été proposé de réparer l'ADN des modifications chimiques subies en raison de son âge. Cette réparation a été effectuée avec le kit de mélange de réparation PreCR® Biolabs M0309S de New England. Celui-ci a été importé et a été utilisé le 11 août.

Après la réparation et la purification, l'ADN a été quantifié et on a obtenu :

Momie 1 0.896 ng/ul avec approx. 13ul
Momie 3 0.132 ng/ul avec approx. 13ul
Momie 5 0.144 ng/ul avec approx. 13ul
Momie 6 0.196 ng/ul avec approx. 13ul

Avec ces banques d'ADN ont été préparées la réalisation du séquençage massif. L'échantillon de la momie 1 a été fabriqué avec 10 ng et le reste des échantillons entre 1 et 2 ng avec tout le volume compté.

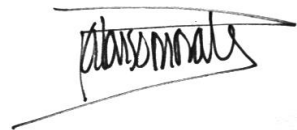
4.- Le 29 août, le séquençage des échantillons a été obtenu, atteignant environ 600 000 lectures par échantillon. Dans le lien suivant, vous pouvez trouver les lectures génomiques obtenues.

<https://www.dropbox.com/sh/yd9gitxd09ecpux/AAAHtROmZ10yp6u2gEYCsg53a?dl=0>

Les lectures d'ADN de chaque échantillon ont été évaluées dans la plate-forme BaseSpace Sequence Hub d'Illumina, à l'aide d'une application permettant d'aligner les séquences avec le génome humain. Ces résultats sont présentés sur les figures 2 à 5. En général, il a été constaté que les lectures d'ADN contiennent environ 30% d'ADN similaire à celui de l'être humain. Les autres séquences sont très probablement des séquences d'origine bactérienne, ce qui est courant dans ce type d'échantillons.

5.- Les lectures de l'ADN ancien sont en ce moment en étude bioinformatique, pour savoir quelles informations génétiques peuvent être récupérées, pour en analyser le sens et pour déterminer s'il est possible d'obtenir un séquençage génomique de plus grande profondeur, dans le but d'avoir plus d'informations et de définir les origines ancestrales des échantillons.

En attendant vos commentaires, je vous adresse mes salutations cordiales.



Dr. Rogelio A. Alonso Morales.

Références: Shapiro B, Heslington M. 2012. Ancient DNA - Methods and Protocols. Humana Press

Tableau 1.- Liste des échantillons anciens reçus le 15 juin 2017

# ID	Légende sur le tube	Poids en g
1	MAIN 00-1	2.38
2	CERVEAU 00-10	1.57
3	MARIA B0 HOM	0.56
4	OS DU COU VERTÈBRE 00-12-VICTORIA 540 MG	0.53
5	OS DE LA HANCHE 02-12 VICTORIA 0.8325 MG	0.33
6	OS DU COU VICTORIA 00-17 PIEL 187 MG	0.17

Tableau 2.- Quantité d'ADN obtenu sur les échantillons anciens,

Échantillon No	Concentration en ng/ul	Volume en ul	Quantité totale ug
1	110	80	8.80
2	19	60	1.14
3	50	60	3.00
4	11	50	0.50
5	25	85	2.12
6	35	35	1.22

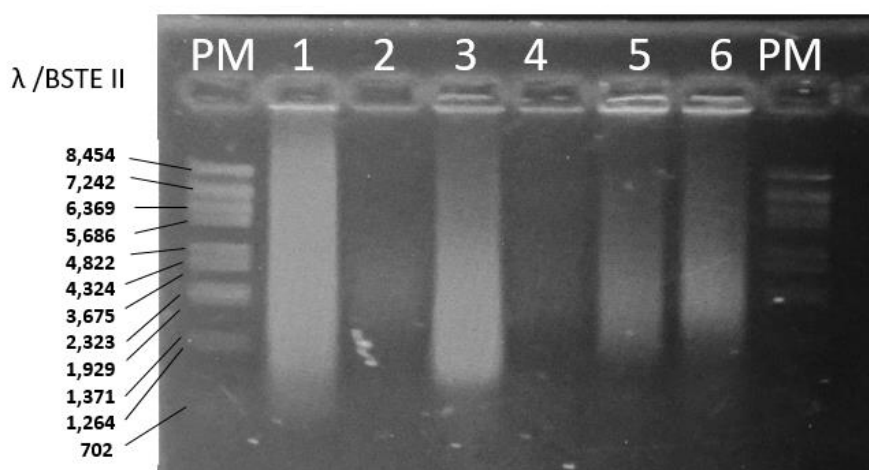


Figure 1.- Évaluation de la qualité et de la quantité de l'ADN. Electroforesis en Agarosa 1%. PM - Marcador de poids moléculaire (ADN lambda / BstII).. A droite, la liste du poids moléculaire en pb. En haut, le numéro de chaque échantillon. Dans chaque piste, 5 ul de la

Figures 3-5.- Nous présentons les résultats obtenus à partir de séquences d'ADN ancien en les alignant sur le génome humain.

RESULTS FOR INPUT SAMPLE MOMIA3

ALIGNMENT STATISTICS

	Reads	Percentage
Total PF	658,294	100.00%
Paired	658,074	99.97%
Read 1	329,037	49.98%
Read 2	329,037	49.98%
Aligned	221,187	33.60%
Properly Paired	217,914	98.52%
Singletons	2,207	1.00%
Secondary Alignments	220	0.10%
Supplementary Alignments	0	0.00%
Duplicates	12,056	5.45%

Please note that "Paired", "Read 1", "Read 2" and "Aligned" percentages are calculated based on the "Total PF" value. All other percentages are calculated based on the "Aligned" value.

Secondary Alignments: Alignments for reads mapping to multiple locations that are not considered the primary alignment.

Supplementary Alignments: Partial alignments for reads split across multiple genomic locations. The first part of the alignment is the primary alignment and the other parts are called supplementary alignments.

Duplicates: Aligned reads marked as possible PCR duplicates by MarkDuplicates.

For more details, please see the [SAM specification](#).

RESULTS FOR INPUT SAMPLE MOMIA1

ALIGNMENT STATISTICS

	Reads	Percentage
Total PF	684,995	100.00%
Paired	682,622	99.65%
Read 1	341,311	49.83%
Read 2	341,311	49.83%
Aligned	135,774	19.82%
Properly Paired	126,544	93.20%
Singletons	3,917	2.88%
Secondary Alignments	2,373	1.75%
Supplementary Alignments	0	0.00%
Duplicates	2,167	1.60%

Please note that "Paired", "Read 1", "Read 2" and "Aligned" percentages are calculated based on the "Total PF" value. All other percentages are calculated based on the "Aligned" value.

Secondary Alignments: Alignments for reads mapping to multiple locations that are not considered the primary alignment.

Supplementary Alignments: Partial alignments for reads split across multiple genomic locations. The first part of the alignment is the primary alignment and the other parts are called supplementary alignments.

Duplicates: Aligned reads marked as possible PCR duplicates by MarkDuplicates.

For more details, please see the [SAM specification](#).

RESULTS FOR INPUT SAMPLE MOMIA5

ALIGNMENT STATISTICS

	Reads	Percentage
Total PF	675,694	100.00%
Paired	675,302	99.94%
Read 1	337,651	49.97%
Read 2	337,651	49.97%
Aligned	196,731	29.12%
Properly Paired	194,598	98.92%
Singletons	983	0.50%
Secondary Alignments	392	0.20%
Supplementary Alignments	0	0.00%
Duplicates	2,805	1.43%

Please note that "Paired", "Read 1", "Read 2" and "Aligned" percentages are calculated based on the "Total PF" value. All other percentages are calculated based on the "Aligned" value.

Secondary Alignments: Alignments for reads mapping to multiple locations that are not considered the primary alignment.

Supplementary Alignments: Partial alignments for reads split across multiple genomic locations. The first part of the alignment is the primary alignment and the other parts are called supplementary alignments.

Duplicates: Aligned reads marked as possible PCR duplicates by MarkDuplicates.

For more details, please see the [SAM specification](#).

RESULTS FOR INPUT SAMPLE MOMIA6

ALIGNMENT STATISTICS

	Reads	Percentage
Total PF	180,026	100.00%
Paired	179,922	99.94%
Read 1	89,961	49.97%
Read 2	89,961	49.97%
Aligned	65,296	36.27%
Properly Paired	64,232	98.37%
Singletons	498	0.76%
Secondary Alignments	104	0.16%
Supplementary Alignments	0	0.00%
Duplicates	809	1.24%

Please note that "Paired", "Read 1", "Read 2" and "Aligned" percentages are calculated based on the "Total PF" value. All other percentages are calculated based on the "Aligned" value.

Secondary Alignments: Alignments for reads mapping to multiple locations that are not considered the primary alignment.

Supplementary Alignments: Partial alignments for reads split across multiple genomic locations. The first part of the alignment is the primary alignment and the other parts are called supplementary alignments.

Duplicates: Aligned reads marked as possible PCR duplicates by MarkDuplicates.

For more details, please see the [SAM specification](#).