

---

# Comparaison de 4 kits d'extraction ADN FFPE pour un séquençage WGS PCR-free

---

## Table des matières

1	OBJET .....	2
2	CHAMP D'APPLICATION POUR LES PLATEFORMES DU PLAN FMG 2025 .....	2
3	PRESENTATION DES 4 KITS D'EXTRACTION ADN FFPE SELECTIONNES.....	2
3.1	Critères de sélection .....	2
3.2	Comparaison des 4 kits sélectionnés .....	3
4	PLAN D'EXPERIENCE.....	3
4.1	Echantillons .....	3
4.2	Expériences .....	3
5	RESULTATS DES 4 KITS .....	5
5.1	Extraction ADN : quantités et qualités obtenues .....	5
5.2	Création des librairies WGS PCR-free : quantités et qualités librairies obtenues .....	6
5.3	Distribution des profondeurs obtenues .....	6
5.4	Analyse des hotspots .....	6
5.4.1	Oncospan: 385 hotspots « high confidence » pour ADNg / 383 hotspots pour FFPE....	6
5.4.2	QMulti: 11 hotspots « high confidence » .....	7
5.5	Faux positifs (FP) introduits par le FFPE détectés par l'appel somatique de variants.....	8
5.6	Faux négatifs (FN) introduits par le FFPE sur l'appel de variants somatiques sur l'échantillon Oncospan.....	8
5.7	AshSon (NA24385) : effet du kit d'extraction sur l'appel de variants constitutionnels .....	9
6	VALIDATION PAR LES PLATEFORMES .....	9
7	CONCLUSION GENERALE : AVANTAGES ET INCONVENIENTS .....	9
8	DOCUMENTS .....	11
9	HISTORIQUE DES MODIFICATIONS.....	12
10	VALIDATION DU DOCUMENT.....	12

N°: 20230501_RT08 Version : 01 Date : /2022	Recommandation Technique Plan FMG 2025	
Sujet Page <b>2/12</b>	Comparaison 4 kits d'extraction ADN FFPE pour WGS PCR-free	

## 1 OBJET

Il a été demandé au CRefIX de proposer un kit d'extraction ADN FFPE (*Formalin-Fixed Paraffin Embedded*) pour des analyses en WGS PCR-free. Une évaluation de 4 kits a été faite pour identifier et sélectionner celui qui :

- donnera une quantité et une qualité d'ADN après extraction suffisante pour créer les bibliothèques WGS ;
- donnera le moins d'artéfacts aux échantillons FFPE et qui se rapprochera le plus des variants présents dans leur échantillon équivalent en congelé ;
- offrira une flexibilité et une facilité d'utilisation pour le déploiement possible sur les plateformes du plan FMG 2025 ;
- aura un coût abordable.

## 2 CHAMP D'APPLICATION POUR LES PLATEFORMES DU PLAN FMG 2025

Cette recommandation n'est valable que pour une analyse finale de WGS PCR-free avec le kit bibliothèque TruSeq DNA PCR-free d'Illumina.

## 3 PRESENTATION DES 4 KITS D'EXTRACTION ADN FFPE SELECTIONNES

### 3.1 Critères de sélection

Le kit commercial sélectionné doit :

- être automatisable ;
- être compatible avec des expériences NGS ;
- contenir le moins de produits CMR possible ;
- ne pas modifier l'ADN FFPE.

Les 4 kits retenus par le CRefIX pour cette évaluation sont donc les kits :

- QIAamp® DNA FFPE Tissue ref 56404, Qiagen.
- Maxwell® RSC DNA FFPE Kit ref AS1450, Promega.
- Maxwell® RSC FFPE + DNA Kit ref AS1720, Promega.
- truXTRAC® FFPE DNA Plus Kit ref PN 520262 , Covaris.

N°: 20230501_RT08 Version : 01 Date : /2022	Recommandation Technique Plan FMG 2025	 France Médecine Génomique 2025
Sujet	Comparaison 4 kits d'extraction ADN FFPE pour WGS PCR-free	
Page 3/12		

### 3.2 Comparaison des 4 kits sélectionnés

	<b>QIAamp DNA FFPE tissue kit (Qiagen)</b>	<b>Maxwell RSC DNA FFPE kit (Promega)</b>	<b>Maxwell RSC FFPE Plus DNA kit (Promega+)</b>	<b>TruXTRAC FFPE DNA plus kit (Covaris)</b>
<b>Automatisable?</b>	Oui (Qiacube)	Oui (Maxwell)	Oui (Maxwell)	Oui (Chemagen)
<b>Nombre scroll</b>	1-2 scrolls (10µm)	2mm3 total Thickness: 5-10µm Area: 20-200 mm2	2mm3 total Thickness: 5-10µm Area: 20-200 mm2	30µm thickness total (ex: 3 scrolls de 10µm)
<b>Déparaffinage</b>	Deparaffinization solution (Qiagen)	Huile minérale	Non	Sonication
<b>Type de purification</b>	Colonne	Billes magnétiques	Billes magnétiques	Billes magnétiques
<b>Digestion PK</b>	56°C de 1h à overnight	56°C 30min à overnight	70°C de 1 H à overnight	56°C 1h à overnight
<b>RNase</b>	Oui en option	Oui en option	Non	Oui en option
<b>Decrosslinking</b>	90°C - 1h	80°C - 4h	Non *	80°C - 1h

\* L'étape de lyse protéique est réalisée à 70°C, elle est couplé avec une étape de decrosslinking.

## 4 PLAN D'EXPERIENCE

### 4.1 Echantillons

Pour éviter les variabilités liées aux échantillons FFPE (différents temps de fixation, type de fixateur, conditions de conservation, nombre de cellules tumorales, etc...), la comparaison des 4 kits a été réalisée sur des standards FFPE vendus par *Horizon Discovery*. Trois types d'échantillons ont été choisis.

	<b>Ashkenazim Son GIAB (AshSon)</b>	<b>Quantitative Multiplex Reference Standard (QMulti)</b>	<b>Oncospan</b>
<b>Lignée cellulaire</b>	GIAB NA24385	HCT116/RKO/SW48 contenant 11 mutations avec une FA* de 0,8 et 24,5%	Lignée cellulaire contenant 386 variants dans 152 gènes cancer clés.
<b>Taille section</b>	15µm ou 20µm	15µm	15µm
<b>Nombre cellule/section</b>	3,5x10 <sup>5</sup> cellules	3,5x10 <sup>5</sup> cellules	-
<b>Type fixateur</b>	Formol	Formol	
<b>% fixateur</b>	4%	10%	4%

\*FA : Fréquence Allélique

Ces références existent aussi en ADN génomique, nommé ADNg dans cette recommandation.

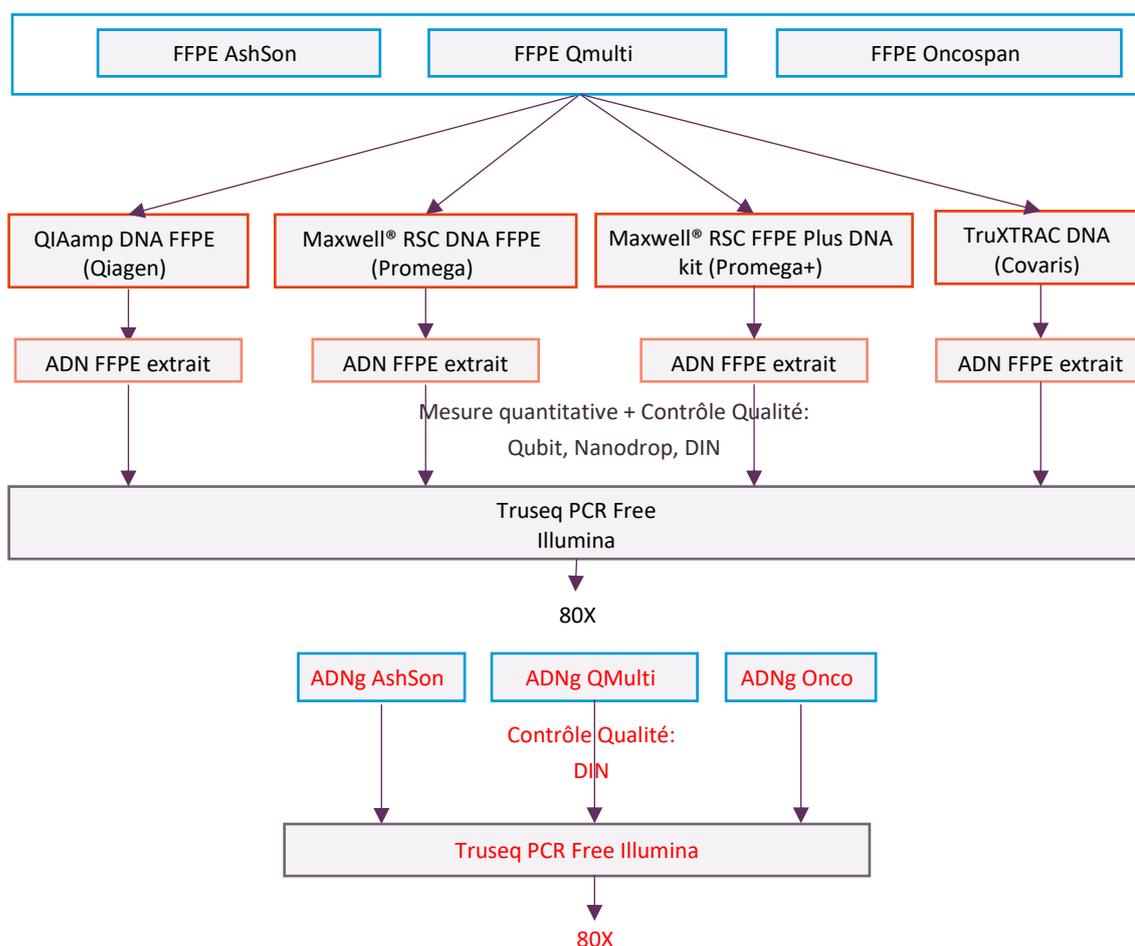
### 4.2 Expériences

Le CRefIX ne possédant pas toutes les machines d'extraction, les expériences ont été réalisées manuellement hormis pour les kits Promega qui nécessitent obligatoirement l'utilisation de la machine Maxwell.

N°: 20230501_RT08 Version : 01 Date : /2022	Recommandation Technique Plan FMG 2025	
Sujet Page <b>4/12</b>	Comparaison 4 kits d'extraction ADN FFPE pour WGS PCR-free	

Afin de se rapprocher au mieux de ce qui est fait au niveau des plateformes du plan FMG2025, le kit de création de bibliothèques utilisé est le kit TruSeq DNA PCR-free d'Illumina nécessitant 1µg d'ADN de départ. Le séquenceur utilisé est le Novaseq 6000. La profondeur visée est de 80X comme recommandée par le plan pour les échantillons tumoraux.

Les ADN génomiques de ces échantillons ont été achetés et séquencés dans les mêmes conditions. Les différentes conditions ont été séquencées une seule fois.



**Nomenclature :**

AshSon : Ashkenazim Son GIAB (NA24385)

QMulti : Quantitative Multiplex Reference Standard

Onco : Oncospan

QIAamp DNA FFPE (Qiagen) : Qiagen

Maxwell® RSC DNA FFPE (Promega) : Promega

Maxwell® RSC FFPE Plus kit (Promega) : Promega +

TruXTRAC DNA (Covaris) : Covaris

N°: 20230501_RT08 Version : 01 Date : /2022	Recommandation Technique Plan FMG 2025	 France Médecine Génomique 2025
Sujet	Comparaison 4 kits d'extraction ADN FFPE pour WGS PCR-free	
Page 5/12		

## Analyses bioinformatiques

- Les analyses des hotspots référencés dans les échantillons commerciaux (Oncospan et QMulti) consistent à utiliser la commande mpileup, fournie par l'outil bcftools (v1.13), et ce à partir des fichiers bam. Ces derniers proviennent de l'alignement des séquences (fastq) sur la référence GRCh38 à l'aide du logiciel bwa-mem2 (v2.1.1). La commande mpileup permet de rassembler les séquences à une même position. La commande call réalise quant à elle, l'appel de variants et génère des résultats au format vcf. Aucun filtre n'est appliqué pour cette analyse puisqu'il s'agit ici de vérifier la présence de ces hotspots au sein des librairies et ainsi établir une comparaison des fréquences observées à celles référencées. Pour les parties 5.5 et 5.6 (voir ci-dessous), les pipelines robustes de détections des variants somatiques (Mutect2 ; GATK ; v4.1.7.0) et constitutionnels (Haplotype Caller ; GATK v4.1.7.0) sont appliqués.
- Le logiciel Mosdepth (v.0.3.2) est utilisé pour calculer la profondeur médiane des échantillons, sur les régions de haute confiance (22 autosomes). Dans un souci d'uniformité, tous les fichiers d'alignements sont downsamplés à une profondeur de 80X à l'aide de l'outil samtools (v1.13)
- Les statistiques et les figures sont générées à l'aide du logiciel R (v4.1.1).

## 5 RESULTATS DES 4 KITS

### 5.1 Extraction ADN : quantités et qualités obtenues

	QIAGEN	PROMEGA	PROMEGA +	COVARIS
<b>Nombre scroll nécessaire pour obtenir 1µg ADN FFPE</b>	10 (9-11)	5	5	6 (4-8)
<b>Quantité obtenue</b>	-	+++	+++	+
<b>A260/280</b>	2,3 (2,1-2,5)	1,9	1,36 (1,35-1,39)	1,9 (1,85-1,93)
<b>Pureté adn</b>	++	+++	-	+++
<b>Valeur du din</b>	7 (6,5-7,3)	5,1 (5-5,2)	7(6,4-7,5)	2 (1-4)
<b>Intégrité adn</b>	+++	++	+++	-
<b>Facilité d'utilisation</b>	++	+++	+++	+/- (automatisable ?)
<b>Temps total estimé</b>	1 scroll (PK on): 18h30 8 scrolls (PK on): 19h30	1 scroll (PK on): 22h 8 scrolls (PK on): 22h30	1 scroll (PK on): 18h 8 scrolls (PK on): 18h30	1 scroll (PK on): 19h 8 scrolls (PK on): 21h

Les kits Promega possèdent un meilleur rendement d'extraction par rapport aux autres kits. L'ADN FFPE extrait avec le kit Covaris est plus fragmenté comparé aux autres kits (probablement dû à la sonication lors du déparaffinage). L'automatisation du kit Covaris nous semble être compromise à cause des billes de purification difficiles à resuspendre en manuel. Concernant la valeur de pureté, le kit Promega + est inférieure aux autres kits.

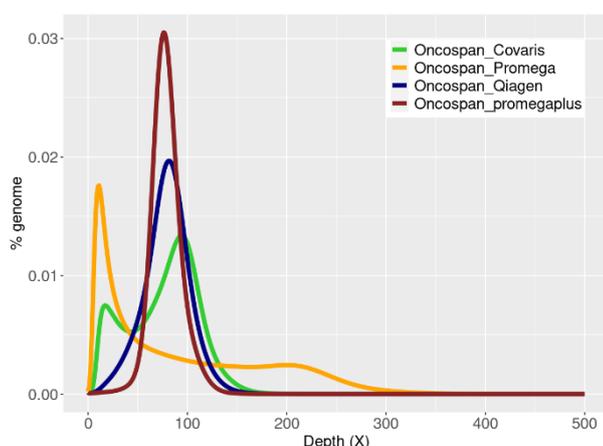
N°: 20230501_RT08 Version : 01 Date : /2022	Recommandation Technique Plan FMG 2025	 France Médecine Génomique 2025
Sujet	Comparaison 4 kits d'extraction ADN FFPE pour WGS PCR-free	
Page 6/12		

## 5.2 Création des librairies WGS PCR-free : quantités et qualités librairies obtenues

	QIAGEN	PROMEGA	PROMEGA+	COVARIS
<b>Quantité librairies (QPCR)</b>	7 nM (6,25-7,5)	3,5 nM (3,2-3,7)	3,84 nM (3,31-4,87)	7,7 nM (7-8,1)
<b>Quantité obtenue</b>	++	-	-	++
<b>Qualité librairies (profil BIOA)</b>	+++	+++	+++	+++

Les quantités de librairies issues des kits FFPE Promega sont plus faibles que les autres kits. Aucune différence n'a été observée au niveau de la qualité des librairies entre les échantillons.

## 5.3 Distribution des profondeurs obtenues



La distribution des profondeurs des kits Promega et Covaris ne suit pas une loi normale centrée sur la profondeur cible de 80X. Or, des profondeurs trop faibles augmentent le risque de perdre certains variants (baisse du *Recall*), tandis que des profondeurs trop fortes augmentent le nombre d'artéfacts (baisse de la *Precision*). Cela entraîne une perte d'information et une perte économique.

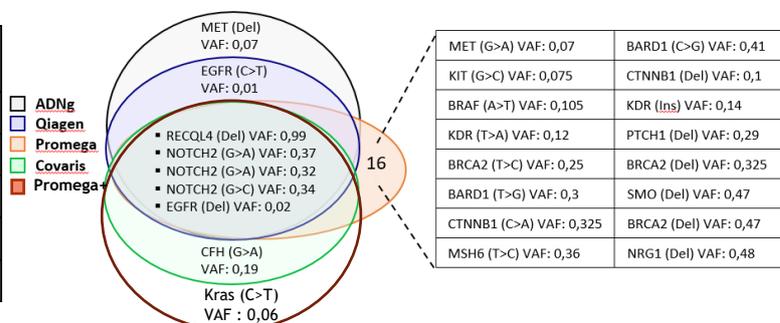
Le kit Promega + est celui qui présente une distribution la plus uniforme.

*NB.* Les profils de profondeur pour les échantillons AshSon et QMulti sont identiques à ceux d'Oncospan.

## 5.4 Analyse des hotspots

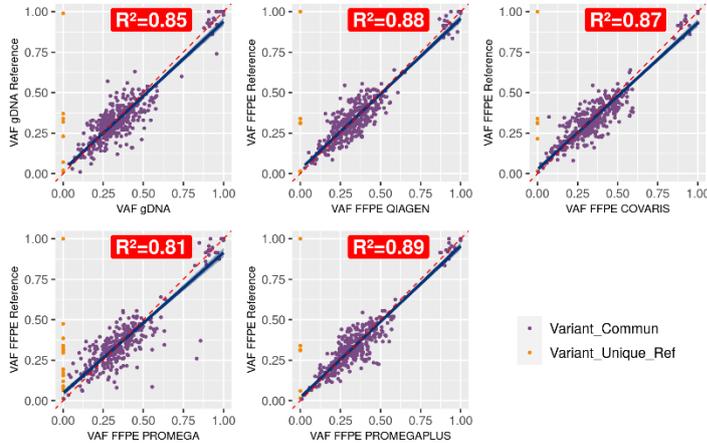
### 5.4.1 Oncospan: 385 hotspots « high confidence » pour ADNg / 383 hotspots pour FFPE

Echantillon	Nombre variants retrouvés
<b>ADNg</b>	377 / 385 (98%)
<b>FFPE Qiagen</b>	377 / 383 (98,5%)
<b>FFPE Promega</b>	362 / 383 (94,5%)
<b>FFPE Covaris</b>	377 / 383 (98,5%)
<b>FFPE Promega +</b>	377 / 383 (98,5%)



Distribution des hotspots manquants

5 variants sont manqués dans tous les échantillons dont 3 dans le gène NOTCH2, non positionnables en hg38. La fréquence de la délétion dans le gène RECQL4 a été corrigée et est dorénavant de 0.00002. Le kit FFPE Promega en perd quant à lui 16 de plus.



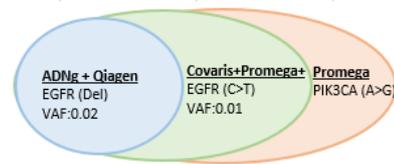
Le coefficient de corrélation ( $R^2$  Pearson) entre la VAF de chaque échantillon vs la référence a été calculé (uniquement sur les variants communs).

Le kit FFPE Promega est celui qui donne une valeur de  $R^2$  la plus faible ( $R^2=0,81$ ) et Promega + la plus élevée ( $R^2=0,89$ ).

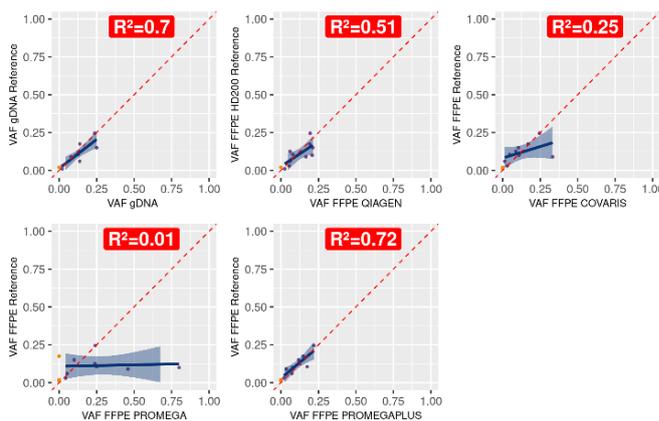
VAF de référence en fonction de la VAF observée pour chaque échantillon

5.4.2 QMulti: 11 hotspots « high confidence »

Echantillon	Nombre variants retrouvés
ADNg	10 / 11 (91%)
FFPE Qiagen	10 / 11 (91%)
FFPE Promega	8 / 11 (72%)
FFPE Covaris	9 / 11 (82%)
FFPE Promega+	9 / 11 (82%)



Distribution des hotspots manquants



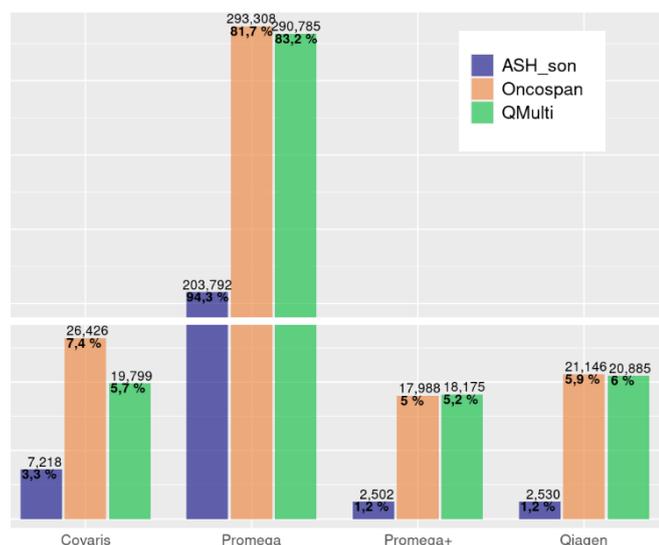
Comme précédemment, le coefficient de corrélation ( $R^2$  Pearson) a été calculé.

Le kit FFPE Promega est celui qui donne une valeur de  $R^2$  la plus faible ( $R^2=0,01$ ) et Promega + la plus élevée ( $R^2=0,72$ ).

VAF de référence en fonction de la VAF observée pour chaque échantillon

N°: 20230501_RT08 Version : 01 Date : /2022	Recommandation Technique Plan FMG 2025	
Sujet Page 8/12	Comparaison 4 kits d'extraction ADN FFPE pour WGS PCR-free	

### 5.5 Faux positifs (FP) introduits par le FFPE détectés par l'appel somatique de variants



Le logiciel Mutect2 a été utilisé sur les extractions FFPE avec l'ADNg comme « normal apparié ». Ce graphique présente le nombre de variants PASS correspondant aux artéfacts introduits lors de la préparation des bibliothèques FFPE. Le % représente la proportion des artéfacts obtenus au sein d'un échantillon en fonction des différents kits.

Les résultats montrent que le kit FFPE Promega induit presque 15 fois plus d'artéfacts (FP) pour les échantillons Oncospan et QMulti que les trois autres kits, et 30 fois plus pour l'échantillon AshSon.

Le kit FFPE Promega+, suivi de près par Qiagen et Covaris, est celui qui présente le moins d'artéfacts.

### 5.6 Faux négatifs (FN) introduits par le FFPE sur l'appel de variants somatiques sur l'échantillon Oncospan

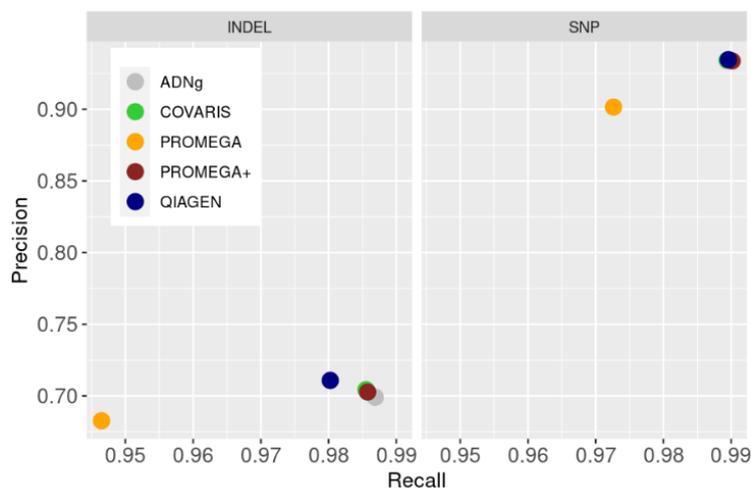
Echantillon	Nombre SNVs retrouvés
ADNg	195/199 (98%)
FFPE Qiagen	195/199 (98%)
FFPE Promega	174/199 (87%)
FFPE Promega+	193/199 (97%)
FFPE Covaris	192/199 (96%)

Ne possédant pas d'échantillon normal associé aux échantillons FFPE, il a été choisi d'utiliser l'échantillon CEPH NA12878 comme référence pour les analyses somatiques. Sur les 387 hotspots référencés pour Oncospan, seuls 199 sont retrouvés homozygote référence lors de l'analyse sur l'ADNg. Le taux de faux négatifs introduits lors de la préparation des bibliothèques FFPE, est donc calculé sur cette base de 199 positions.

Les résultats sont similaires entre les kits Covaris, Qiagen et Promega+, le kit Promega en manque quant à lui 25.

N°: 20230501_RT08 Version : 01 Date : /2022	Recommandation Technique Plan FMG 2025	
Sujet Page 9/12	Comparaison 4 kits d'extraction ADN FFPE pour WGS PCR-free	

### 5.7 AshSon (NA24385) : effet du kit d'extraction sur l'appel de variants constitutionnels



Le logiciel Haplotype Caller de GATK est utilisé pour l'appel de variants constitutionnels sur l'échantillon AshSon. Les valeurs de *Precision* et *Recall* des kits FFPE Qiagen, Covaris et Promega+ sont comparables à ceux de l'ADNg (>0.98). Les variants trouvés par le kit FFPE Promega affichent à la fois une moins bonne *Precision* et *Recall*.

## 6 VALIDATION PAR LES PLATEFORMES

Le CRefIX n'étant pas un organisme d'accréditation, les tests de répétabilité, de robustesse, de limite de détection (non applicable) n'ont pas été faits.

Les plateformes désirant utiliser ces kits d'extractions devront refaire une validation de méthode.

Le CRefIX n'a pas réalisé de test en utilisant une plateforme robotique.

## 7 CONCLUSION GENERALE : AVANTAGES ET INCONVENIENTS

En conclusion, le kit FFPE Covaris se révèle moins performant que les deux autres kits pour l'étape d'extraction de l'ADN, tandis que le kit FFPE Promega engendre des variants spécifiques et une perte de la sensibilité lors de l'analyse bio-informatique. Cela entraîne potentiellement des erreurs dans l'interprétation des résultats. Le kit FFPE Qiagen est consommateur de scroll pour obtenir un microgramme d'ADN. Le kit FFPE Promega + affiche en revanche de bonnes performances depuis l'extraction jusqu'à l'analyse finale des variants malgré des ratios de qualités moindres.

N°: 20230501_RT08 Version : 01 Date : /2022	Recommandation Technique Plan FMG 2025	 France Médecine Génomique 2025
Sujet	Comparaison 4 kits d'extraction ADN FFPE pour WGS PCR-free	
Page 10/12		

		QIAamp DNA FFPE tissue kit (Qiagen)	Maxwell RSC DNA FFPE kit (Promega)	Maxwell RSC FFPE Plus DNA kit (Promega+)	TruXTRAC FFPE DNA plus kit (Covaris)
Extraction ADN	Quantité (Qubit)	-	+++	+++	+
	Pureté ADN (A260/280)	++	+++	-	++
	Valeur DIN (Tapestation)	+++	++	+++	-
	Facilité d'utilisation	++	+++	+++	+/- (automatisable?)
Création librairies	Quantité (qPCR)	++	-	-	++
	Qualité (BioA)	+++	+++	+++	+++
Analyse bioinforma tique	Homogénéité Profondeur	++	---	+++	+
	Hotspots	+++	--	+++	++
	Artéfacts FFPE (FP)	++	--	+++	++
	Variants FN somatiques	+++	--	+++	++
	Précision/Recall Variants constit	++	-	++	++

Le CRefIX recommande les kits QIAamp DNA FFPE tissue kit (Qiagen) et Maxwell RSC FFPE Plus DNA kit (Promega+) selon le nombre de scrolls disponibles. Le CREFIX conseille de porter attention sur les ratio qualité du Promega+ qui pourraient impacter la création de librairies avec une étape de fragmentation enzymatique. Des investigations sont en cours concernant ce point.

N°: 20230501_RT08 Version : 01 Date : /2022	Recommandation Technique Plan FMG 2025	
Sujet Page <b>11/12</b>	Comparaison 4 kits d'extraction ADN FFPE pour WGS PCR-free	

## 8 DOCUMENTS

- truXTRAC® FFPE DNA Plus Kit – Magnetic Beads
  - Adaptive Focused Acoustics® (AFA®)-based DNA extraction from FFPE tissues using magnetic bead-based purification PN 520262 (01466D)
- Maxwell® RSC DNA FFPE Kit
  - Instructions for Use of Product AS1450 (revisited 11/17 TM437)
- QIAamp® DNA FFPE Tissue Handbook
  - For purification of genomic DNA from formalin-fixed, paraffin-embedded tissues (june 2012)
- QIAGEN Supplementary Protocol
  - Purification of genomic DNA from FFPE tissue using the QIAamp® DNA FFPE Tissue Kit and Deparaffinization Solution (QA50 june 11)
- Maxwell® RSC FFPE Plus DNA Kit
  - Instructions for Use of Products AS1720 and AS1770 (Revised 12/21 TM574)
- TruSeq DNA PCR-Free :
  - TruSeq DNA PCR-Free Reference Guide Ref Document # 1000000039279 v00 (October 2017)
- Bruinsma S, et al, Bead-linked transposomes enable a normalization-free workflow for NGS library preparation. BMC Genomics, 2018 Oct 1;19(1):722.
- [1] Chen YC, Liu T, Yu CH, Chiang TY, Hwang CC, Effects of GC bias in next-generation-sequencing data on de novo genome assembly, PLoS One, 2013 Apr 29;8(4):e62856, doi: 10.1371/journal.pone.0062856, PMID: 23638157; PMCID: PMC3639258.
- [2] The full BWA package is distributed under GPLv3 as it uses source codes from BWT-SW which is covered by GPL, Sorting, hash table, BWT and IS libraries are distributed under the MIT license.
- [3] Li H, Handsaker B, Wysoker A, Fennell T, Ruan J, Homer N, Marth G, Abecasis G, Durbin R; 1000 Genome Project Data Processing Subgroup, The Sequence Alignment/Map format and SAMtools, Bioinformatics, 2009 Aug 15;25(16):2078-9, doi: 10.1093/bioinformatics/btp352, Epub 2009 Jun 8, PMID: 19505943; PMCID: PMC2723002.
- [4] Pedersen BS, Quinlan AR, Mosdepth: quick coverage calculation for genomes and exomes. Bioinformatics, 2018 Mar 1;34(5):867-868, doi: 10.1093/bioinformatics/btx699, PMID: 29096012; PMCID: PMC6030888.
- [5] Calling Somatic SNVs and Indels with Mutect2, David Benjamin, Takuto Sato, Kristian Cibulskis, Gad Getz, Chip Stewart, Lee Lichtenstein bioRxiv 861054; doi: <https://doi.org/10.1101/861054>
- [6] Shen R, Seshan VE, FACETS: allele-specific copy number and clonal heterogeneity analysis tool for high-throughput DNA sequencing, Nucleic Acids Res, 2016 Sep 19;44(16):e131, doi: 10.1093/nar/gkw520, Epub 2016 Jun 7, PMID: 27270079; PMCID: PMC5027494,
- [7] RTG Tools: Utilities for accurate VCF comparison and manipulation, <https://github.com/RealTimeGenomics/rtg-tools>
- [8] Manders F, Brandsma AM, de Kanter J, Verheul M, Oka R, van Roosmalen MJ, van der Roest B, van Hoeck A, Cuppen E, van Boxtel R, MutationalPatterns: the one stop shop for the analysis of mutational processes, BMC Genomics, 2022 Feb 15;23(1):134, doi: 10.1186/s12864-022-08357-3, PMID: 35168570; PMCID: PMC8845394. Blokzijl F, Janssen R, van Boxtel R, Cuppen E, MutationalPatterns: comprehensive genome-wide analysis of mutational processes, Genome Med, 2018 Apr 25;10(1):33, doi: 10.1186/s13073-018-0539-0, PMID: 29695279; PMCID: PMC5922316.

N°: 20230501_RT08 Version : 01 Date : /2022	Recommandation Technique Plan FMG 2025	 France Médecine Génomique 2025
Sujet	Comparaison 4 kits d'extraction ADN FFPE pour WGS PCR-free	
Page <b>12/12</b>		

- [9] Chen X, Schulz-Trieglaff O, Shaw R, Barnes B, Schlesinger F, Källberg M, Cox AJ, Kruglyak S, Saunders CT, Manta: rapid detection of structural variants and indels for germline and cancer sequencing applications, *Bioinformatics*, 2016 Apr 15;32(8):1220-2, doi: 10.1093/bioinformatics/btv710, Epub 2015 Dec 8, PMID: 26647377.
- [10] Transient structural variations have strong effects on quantitative traits and reproductive isolation in fission yeast, Jeffares, Daniel C; Jolly, Clemency; Hoti, Mimoza; Speed, Doug; Shaw, Liam; Rallis, Charalampos; Balloux, Francois; Dessimoz, Christophe; Bähler, Jürg; Sedlazeck, Fritz J, *Nature communications*, Vol, 8, 14061, 24,01,2017, p, 1-11, DOI:10.1038/NCOMMS14061; <https://github.com/fritzsedlazeck/SURVIVOR>

## 9 HISTORIQUE DES MODIFICATIONS

Version	Date	Nature de la modification
V01	05/01/2024	Relecture
V00	01/09/2023	Création

## 10 VALIDATION DU DOCUMENT

RÉDACTEURS	RELECTEURS
Mélanie Letexier, Jasmin Cévest, Alice Moussy, Edouard Turlotte	Jean François Deleuze, Alain Viari, Violette Turon
PLAN EXPERIMENTAL	Fonction : Direction Unité
Alice Moussy, Edouard Turlotte	Date : 05/01/2024
ANALYSE	Visa :
Mélanie Letexier, Alice Moussy, Jasmin Cévest	
Date : 10/10/2023	
Visa :	