



CAHIER DES CLAUSES TECHNIQUES PARTICULIERES

PRESTATIONS DE SEQUENÇAGE HAUT DEBIT D'ARN

Pouvoir adjudicateur :

INRAE – Unité BFP
Centre de Recherche Nouvelle Aquitaine Bordeaux
71 avenue Edouard Bourlaux – CS 20032 – 33882 Villenave d'Ornon Cedex
N° SIRET 180 070 039 01274

Réf : INRAEC222025001



Article 1: Objet du marché et présentation de l'achat et de son contexte

L'Institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement (INRAE) est un établissement public de recherche rassemblant une communauté de travail de 12 000 personnes, avec 268 unités de recherche, de service et expérimentales, implantées dans 18 centres sur toute la France. INRAE se positionne parmi les tout premiers leaders mondiaux en sciences agricoles et alimentaires, en sciences du végétal et de l'animal. Ses recherches visent à construire des solutions pour des agricultures multi-performantes, une alimentation de qualité et une gestion durable des ressources et des écosystèmes

L'Unité BFP (Biologie du Fruit et Pathologie) est une unité mixte de recherche INRAE-Université de Bordeaux, implantée sur le centre de Bordeaux Nouvelle Aquitaine.

L'équipe Virologie Végétale de l'UMR BFP est engagée dans le projet CASDAR REDIVIBE (Réservoirs et dispersion des virus de la betterave), lauréat de l'appel à projet FranceAgriMer Lutte contre la jaunisse de la betterave 2024 (PNRI-C) et dont un des objectifs est d'identifier les réservoirs des virus responsables des jaunisses de la betterave, ainsi que des pucerons vecteurs, et de caractériser les flux de dispersion des virus de leurs réservoirs vers les cultures.

Dans ce cadre, l'équipe Virologie Végétale souhaite mettre en place des prestations de séquençage haut débit d'ARN totaux extraits de différentes plantes (betteraves essentiellement).

Article 2: Décomposition en tranches et en lots

Sans objet

Article 3: Spécifications techniques des fournitures ou services

La prestation est la suivante : Séquençage de transcriptome eucaryote par RNA-seq

La prestation comporte plusieurs étapes

- Contrôle qualité des préparations d'ARN totaux réceptionnés : évaluation de la concentration par méthode fluorimétrique et de la distribution de taille par électrophorèse automatique (RIN)
- En cas de problème (échantillons dégradés, présence d'inhibiteurs), le prestataire s'engage à échanger pour trouver une solution (ré-envoi de certains échantillons si besoin)
- Traitement DNase et purification des ARN traités
- Déplétion des ARN ribosomaux eucaryotes (plantes)
- Préparation librairies de séquençage pour séquençage short read Illumina (ou équivalent) à partir des ARN déplétés
- Séquençage type Illumina (ou équivalent) en Paired-End avec des fragments de courte longueur (exemple : 2 * 150 pb) avec un objectif de production de 30 millions de reads minimum par échantillon
- Fourniture des données au format Fastq
- Contrôle de la qualité des données obtenues
- A chaque étape du processus (contrôle qualité, traitement DNase, déplétion, préparation des librairies, séquençage, démultiplexage), le prestataire s'engage à échanger de façon informelle (par mail par ex) avec l'équipe de recherche afin d'évaluer les éventuels ajustements
- A l'issue de la prestation, un rapport technique détaillant les différentes étapes du processus sera fourni pour chaque échantillon. Le candidat fournira un modèle de rapport dans son offre.
- Le prestataire devra fournir un lien de téléchargement des données issues du séquençage, et garder ce lien actif pendant au moins 6 mois après la fin du projet (durée à préciser dans l'offre)

Le nombre maximal d'échantillons à séquencer envisagé est de 1000, réparti comme suit : 600 début 2025 et de 400 fin 2025-début 2026. Les échantillons à traiter sont regroupés en lots. Chaque lot correspond à un ensemble d'échantillons préparés simultanément en interne dans l'équipe de Virologie Végétale.

L'équipe Virologie Végétale se charge de l'envoi sous carboglace des échantillons en microtubes de 0,5 à 2 ml selon préférence du prestataire (mais pas de plaque de 96 échantillons). Le candidat indique dans son offre l'adresse à laquelle les échantillons devront être envoyés.

Pendant le transport entre le laboratoire (33140 Villenave d'Ornon, France) et le lieu d'exécution de la prestation, toute ouverture du colis est interdite afin d'empêcher toute manipulation des échantillons qui pourraient dégrader les ARN en raison de leur fragilité ou entraîner la perte d'un échantillon. En raison de ces risques, le re-routage des échantillons est interdit.

Les candidats devront indiquer dans leur offre, en complétant le Cadre de Mémoire Technique (CRT) pièce du DCE, les informations suivantes :

- ✓ Les conditions spécifiques relatives aux extraits d'ARN requises par le prestataire comme par exemple, volume minimum, concentration minimale, quantité minimale, doivent être communiquées dans l'offre du candidat. En cas d'incompatibilité entre ces conditions et celles du laboratoire de Virologie, le candidat ne sera pas retenu
- ✓ Les critères de contrôle de la qualité des ARNs reçus,
- ✓ Le kit de ribodéplétion utilisé,
- ✓ Le kit de préparation des librairies utilisé,
- ✓ La technologie et le type de séquenceur employés pour le séquençage,
- ✓ Le prix unitaire pour le séquençage d'un échantillon (30 millions de reads) pour chacune des étapes du processus, à indiquer au BPU,
- ✓ Les critères de contrôle de la qualité des données obtenues,
- ✓ Le délai de réalisation entre la réception des échantillons et la mise à disposition des données,
- ✓ Le moyen de mise à disposition des données brutes et démultiplexées (NAS, disque dur, ftp),
- ✓ La durée de conservation des données par le prestataire à l'issue de la prestation,
- ✓ La durée de conservation des échantillons biologiques à l'issue de la prestation,
- ✓ Les moyens mis en place pour assurer la confidentialité des données,
- ✓ L'adresse à laquelle devront être envoyés les échantillons pour la phase de test,
- ✓ La méthode de recyclage des consommables plastiques qu'il mettra en place dans le cadre du présent marché,
- ✓ Le détail de sa politique de gestion des déchets dans le cadre du présent marché.

En cas de qualité insuffisante pour un ou plusieurs échantillons lors de la réalisation de la prestation, le titulaire demandera systématiquement l'accord du demandeur de l'équipe de Virologie avant toute poursuite de la prestation demandée pour l'ensemble des échantillons du même lot.

Article 4: Critères d'acceptation pour les résultats de séquençage

Pour chaque échantillon :

- ✓ Au moins 85% des bases obtiennent un QScore égal ou supérieur à 30
- ✓ Si le nombre de reads fournis est inférieur à 2 x 15 millions, le résultat ne sera pas accepté et le titulaire devra re-séquencer à ses frais (sauf si l'échantillon était de mauvaise qualité et/ou de quantité insuffisante)
- ✓ Si le nombre de reads fournis est supérieur à 2 x 15 millions, aucun surcoût ne sera payé par l'équipe de Virologie Végétale
- ✓ Le paiement sera effectué à l'issue de la fourniture des données et après validation finale par l'équipe de recherche
- ✓ Dans le cas où le processus visant le séquençage d'un échantillon serait interrompu (cf article 3), le prestataire ne facturera que les étapes réussies

Article 5: Autres exigences

En cas d'échec de la ribodéplétion ou de la préparation de la librairie, si les extraits d'ARN fournis ont passé le contrôle qualité à réception du titulaire, le titulaire réitère l'étape à sa charge (sans facturation).

En cas de contamination imputable au titulaire, observée par l'équipe de Virologie Végétale à l'issue de l'analyse des résultats de séquençage transmis par le titulaire, un re-séquençage de l'échantillon sera réalisé à la charge du titulaire.

Le demandeur sera informé si un échantillon est re-séquéncé à l'initiative du titulaire.

Le prestataire conservera le reliquat des extraits au moins trois mois après la mise à disposition des résultats afin de pouvoir réitérer tout ou partie du processus analytique en cas de problème. Si le candidat peut proposer un délai plus long, il l'indique dans son offre.

Établi à Villenave d'Ornon le 10 janvier 2025