

CAHIER DES CHARGES

Annexe 2 au CCP n° INSERM-GO-2025-06

**Accord-cadre portant sur les prestations de séquençage haut débit
pour l'unité Inserm U1085**

Contexte

Les prestations à réaliser dans le présent marché entrent dans le cadre de plusieurs projets européens (MERLON, PARC) et de la suite du programme transversal scientifique HuDeCA. Brièvement, ces projets visent à établir des atlas cellulaires de référence de plusieurs organes du tractus urogénital (tels que les gonades et les tubercules génitaux) au cours du développement, chez l'être humain ainsi que chez d'autres espèces modèles comme le rat. Ils ont également pour objectif d'examiner l'impact de l'exposition à des xénobiotiques et à des perturbateurs endocriniens sur ces processus, en constituant des atlas cellulaires dits "altérés".

Détail des prestations attendues

Le prestataire s'engage à réaliser les prestations de service de séquençage haut-débit Illumina des librairies conformément aux exigences du laboratoire décrites ci-après.

♦ Séquençage sur une plateforme équivalent à la technologie NovaSeq 6000 (Illumina) de librairies de scRNA-seq, snRNA-seq et multiome (scATAC-seq+scRNA-seq) provenant de technologies Chromium (10X Genomics) et Evercode (ParseBiosciences).

- Le prestataire devra être capable de prendre en charge des librairies issues de plusieurs technologies incluant: du single-cell RNA-seq, du single-nuclei RNA-seq, du single-cell RNA-seq avec multiplexage des échantillons via la technologie CellPlex (10X Genomics), du single-nuclei RNA-seq avec multiplexage des échantillons via la technologie NucleiHashing, du snRNA-seq et snATAC-seq pour chaque cellule individuelle sur la base du kit Multiome commercialisé par 10X Genomics, du single-nuclei RNA-seq sur la base des kits Evercode commercialisés par ParseBiosciences.
- Mise à disposition d'interlocuteurs (commercial et technique/scientifique) dédiés qui assureront le suivi des prestations depuis la réception des échantillons jusqu'à la livraison des résultats.
- Traitement des échantillons en plusieurs lots
- Vérification de la qualité et de la concentration des librairies.
- Pré-séquençage des librairies afin d'ajuster la molarité des librairies lors du multiplexage.
- Transmission des résultats au maximum dans les vingt-cinq (25) jours ouvrés à compter de la réception des échantillons.
- Transmission des résultats aux formats fastq, accompagnés d'un rapport d'analyse par échantillon, via un serveur SFTP avec accès par un code client confidentiel.
- Conservation des résultats au minimum pendant 10 jours ouvrés.
- Multiplexage des échantillons et séquençage Illumina paired-end (Read1 = 28 bases; Read 2 = 91 bases ; i7 = 8 bases).
- Pour la technologie Chromium, pour chaque échantillon profondeur d'a minima 250 millions de fragments séquencés et présentant un score de qualité supérieur ou égale à Q30. Pour la technologie Evercode, les recommandations sont de 25'000 à 50'000 de fragments séquencés et présentant un score de qualité supérieur ou égale à Q30 par cellule. Ainsi pour les kits Evercode, il est recommandé de séquencer les librairies à hauteur de 2.5 à 5 milliards de fragments pour le kit 100K cells (généralement 4 milliards dans notre laboratoire) et 25 à 50 milliards de fragments pour le kit 1Mega cells (généralement 40 milliards dans notre laboratoire).

♦ Séquençage sur une plateforme équivalent à la technologie NovaSeq 6000 (Illumina) de librairies de spatial transcriptomics, technologie Visium et Visium HD (10X Genomics)

- Le prestataire devra être capable de prendre en charge des librairies issues de la technologie Visium et Visium HD commercialisé par 10X Genomics.
- Mise à disposition d'un interlocuteur dédié qui assurera le suivi des prestations depuis la réception des échantillons jusqu'à la livraison des résultats.
- Traitement des échantillons en plusieurs lots
- Vérification de la qualité et de la concentration des librairies par une puce Bioanalyzer High Sensitivity DNA (Agilent Technologies).

- Transmission des résultats au maximum dans les vingt-cinq (25) jours ouvrés à compter de la réception des échantillons.
- Transmission des résultats aux formats fastq, accompagnés d'un rapport d'analyse par échantillon, via un serveur sFTP avec accès par un code client confidentiel.
- Conservation des résultats au minimum pendant 10 jours ouvrés.
- Multiplexage des échantillons et séquençage Illumina paired-end (Read R1 : 28pb, Read R2 : 90bp, index i7 : 10 pb et index i5: 10bp).
- Pour chaque échantillon profondeur d'a minima 100 millions de fragments séquencés et présentant un score de qualité supérieur ou égale à Q30 pour la technologie Visium et 1 milliard de fragments séquencés pour la technologie Visium HD.

♦ **Séquençage sur une plateforme équivalent à la technologie NovaSeq 6000 (Illumina) de librairies de 3'-BRB-seq.**

- Le prestataire devra être capable de prendre en charge des librairies issues de la technologie BRB-seq (Alpern et al, 2019).
- Mise à disposition d'un interlocuteur dédié qui assurera le suivi des prestations depuis la réception des échantillons jusqu'à la livraison des résultats.
- Traitement des échantillons en plusieurs lots
- Vérification de la qualité et de la concentration des librairies.
- Pré-séquençage des librairies afin d'ajuster la molarité des librairies lors du multiplexage.
- Transmission des résultats au maximum dans les vingt-cinq (25) jours ouvrés à compter de la réception des échantillons.
- Transmission des résultats aux formats fastq, accompagnés d'un rapport d'analyse par échantillon, via un serveur sFTP avec accès par un code client confidentiel.
- Conservation des résultats au minimum pendant 10 jours ouvrés.
- Multiplexage des échantillons et séquençage Illumina paired-end (Read1 = 100 bases; Read 2 = 100 bases).
- Pour chaque librairie BRB-seq profondeur d'a minima 250 millions de fragments séquencés et présentant un score de qualité supérieur ou égale à Q30.

Contact

Le contact pour le partenaire Inserm-U1085 à Rennes est M. Frédéric CHALMEL
frederic.chalmel@univ-rennes1.fr

Quantité

A titre indicatif, les quantités estimatives prévues pour l'exécution du présent marché seraient 1'000'000 à 2'000'000 de cellules pour le projet MERLON notamment ; soit 50 à 100 milliards de fragments séquencés.

Ces chiffres sont indicatifs