

CAHIER DES CLAUSES TECHNIQUES PARTICULIERES

PRESTATIONS DE SEQUENCAGE HAUT DEBIT D'ADN POUR L'UNITE DE RECHERCHE ECOLOGIE DES FORETS MEDITERRANEENNES (URFM) DU CENTRE INRAE PACA

INRAE PACA

Centre de Recherche Provence Alpes Côte d'Azur
228 route de l'Aérodrome - Site Agroparc - CS 40509
84914 Avignon Cedex 9
N° SIRET 180 070 039 00631

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 plus de 200 unités de recherche, de service et expérimentale** 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 de Recherche écologie des Forêts Méditerranéennes (URFM)** est une unité pluridisciplinaire, située à Avignon sur le centre **INRAE Provence-Alpes-Côte-d'Azur**. Son objectif scientifique général est de **comprendre et modéliser les processus biologiques, physiques et anthropiques** impliqués dans le **fonctionnement, l'évolution et la dynamique des forêts méditerranéennes**, et dans leurs perturbations

Au sein de cette unité, l'**équipe Biologie des Population et Evolution (BioPopEvol)** est engagée dans le projet **PangénomeBEECH** (cofinancé par DFG (DE) et ANR (FR)) dont l'objectif est **d'analyser le pangénome du hêtre européen (Fagus sylvatica)** afin d'élucider le rôle de la **variation génétique structurelle dans l'adaptation locale et la différenciation phénotypique** dans différents environnements.

Dans ce cadre, l'équipe BioPopEvol souhaite mettre en place une **prestation de séquençage haut débit d'ADN totaux extraits sur 2200 échantillons** de hêtre issus de jardins communs français et allemand.

Article 2: [Décomposition en phase](#)

La prestation se déroulera en deux phases indépendantes :

- **Phase 1** : séquençage de **1500 échantillons**. Elle débutera dès la réception des échantillons d'ADN par la plateforme de séquençage, et les données devront être mises à disposition une fois le séquençage de ce premier lot d'échantillons terminé.
- **Phase 2** : séquençage des **700 échantillons** restants et interviendra six mois après la première.

Article 3: [Spécifications techniques des fournitures ou services](#)

La prestation est la suivante : **Séquençage génome entier** à partir d'ADN d'échantillons de hêtre sur une plateforme **Illumina Paired End 150 pb (ou équivalent)**.

La prestation comporte plusieurs étapes :

- **Contrôle qualité des préparations d'ADN réceptionnés** : évaluation de la concentration par méthode fluorimétrique.
- 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**).

- **Préparation des librairies de séquençage** pour **séquençage short read Illumina** (ou équivalent) à partir des ADN.
- Séquençage type **Illumina (ou équivalent) en Paired-End** avec des fragments de courte longueur (**2 * 150 pb**) avec un objectif de production de **66 millions de paires de reads minimum par échantillon (soit 20 Gb)**.
- **Fourniture des données au format FASTQ.**
- **Contrôle de la qualité des données obtenues.**
- A chaque étape du processus (contrôle qualité, 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'issu 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 de l'exécution du marché** (durée à préciser dans l'offre).

Le nombre maximal d'échantillons à séquencer est de 2200, réparti comme suit : **1500 envoyés en juillet 2026 et 700 envoyés en décembre 2026**. Les échantillons à traiter sont regroupés en **2 lots**. Chaque lot correspond à un ensemble d'échantillons préparés simultanément en interne dans l'équipe BioPopEvol.

L'équipe BioPopEvol se charge de **l'envoi sous carboglace des échantillons en plaque 96 puits** selon la préférence du prestataire. Le candidat indique dans **son offre l'adresse à laquelle les échantillons devront être envoyés**.

Pendant le transport entre le laboratoire (84000 Avignon, 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 ADN ou entraîner la perte d'échantillons. En raison de ces risques, le re-routage des échantillons est interdit.

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

- Le prestataire doit accepter de traiter **des échantillons d'ADN** dont les critères de qualité sont minimum ceux-ci-dessous :
 - **Ratio de pureté 260/280 ≥ 1.6**
 - **Ratio de pureté 260/230 ≥ 1.3**
 - **Quantité de matrice ≥ 200 ng d'ADN génomique à une concentration ≥ 10 ng/ μ l.**
- Le kit de préparation des librairies utilisé,
- **La technologie et le type de séquenceur employés** pour le séquençage,
- **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**,
- **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 BioPopEvol 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 la **quantité de données de séquençage par individu est inférieure à 20Gb**, 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 la **quantité de données est supérieure à 20 Gb**, aucun surcoût ne sera payé par l'équipe BioPopEvol.
- Le paiement sera effectué à **l'issue de la fourniture des données de chaque lot 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 de **contamination imputable au titulaire**, observée par l'équipe BioPopEvol 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-séquencé à l'initiative du titulaire. Le prestataire conservera le **reliquat des extraits d'ADN** 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.