Szczegółowy opis przedmiotu postępowania nr **8/MUK/2021 *Załącznik nr: 2***

1. Przedmiot zamówienia polega na wykonaniu usługi sekwencjonowania nowej generacji (NGS) próbek dostarczonych przez zamawiającego i uzyskanie sekwencji (wg opisu poniżej).
	1. Usługa składa się z trzech nie powiązanych ze sobą części:

**I część** - sekwencjonowanie całego eksomu (WES) w technologii TWIST 40-50 próbek DNA dostarczonych przez zamawiającego;

**II część** - sekwencjonowanie RNA-seq 60-70 próbek mRNA dostarczonych przez zamawiającego;

**III część** - sekwencjonowanie całego genomu (WGS) 10-15 próbek DNA dostarczonych przez zamawiającego;

* 1. Dopuszcza się składanie oddzielnych ofert dotyczących poszczególnych części od I do III. Każda z ofert musi spełniać warunki określone dla poszczególnych części w specyfikacji opisanej w punktach 2-3.
	2. Zamawiający zastrzega sobie możliwość zmiany liczby próbek opisanej w umowie (oraz odpowiedniej zmiany należności w ramach każdej z części umowy).
	3. Wykonawca zapewnia, w cenie usługi, wsparcie merytoryczne i techniczne przed, podczas oraz po wykonaniu projektu, w tym bieżące informowanie Zamawiającego o postępach i etapach pracy poprzez regularną komunikację z dedykowanym managerem projektu ~~a także spersonalizowany dostęp do systemu zarządzania (LIMS)~~ celem weryfikacji aktualnego statusu eksperymentu.
1. Szczegółowy opis zamawianej usługi sekwencjonowania nowej generacji (NGS) próbek dostarczonych przez zamawiającego.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Lp.** | **Opis przedmiotu usługi** | **Przewidywana liczba próbek** | **Cena za jedną zsekwencjonowaną próbkę: ….. EURO** |
| 1 | **Część I : Wykonanie sekwencjonowania WES próbek DNA dostarczonych przez Zamawiającego, w technologii TWIST z wykorzystaniem platformy Illumina.** |
| **1. Dostarczenie próbek do Wykonawcy**Koszty transportu próbek (z wkładami chłodzącymi) pokrywa Wykonawca (koszty jednokrotnego transportu próbek na każdą z transz). W przypadku negatywnej weryfikacji jakości próbek, wykonawca pokrywa koszty jednokrotnego dostarczenia dodatkowego materiału na każdą z transz. Strona zamawiająca wyśle próbki w 1 lub 2 transzach. Przewidywany termin wysyłki materiału – IV-VIII 2021. | 40-50 próbek | W cenie usługi |
| **2. Ocena jakości oraz ilości dostarczonego materiału**Wykonawca dokona oceny parametrów jakościowych (czystości, integralności oraz ilości) dostarczonych próbek metodami fluoroscencyjnymi (analiza ilościowa), spektrofotometrycznymi (analiza czystości) oraz zastosuje elektroforezę żelową (w celu dokonania oceny integralności materiału). W przypadku niespełnienia kryteriów, do sekwencjonowania skierowana będzie odpowiednio mniejsza ilość prób.  | Dla wszystkich dostarczonych próbek | W cenie usługi |
| **3. Przygotowanie bibliotek do sekwencjonowania na platformie Illuminy**Do przygotowania bibliotek użyty zostanie zestaw Twist Comprehensive Exome+mt. Biblioteki zostaną zweryfikowane pod kątem długości fragmentów przy użyciu platformy Bioanalyzer lub Tapestation.  | Dla wszystkich próbek spełniających kryteria ilościowe i jakościowe | W cenie usługi |
| **4. Sekwencjonowanie wygenerowanych bibliotek**Na platformie Illuminy NovaSeq6000 z zachowaniem następujących parametrów sekwencjonowania: konfiguracja 2x150 (pair end), średnie pokrycie ~50x (gwarantowana ilość danych 5 Gbp).Po otrzymaniu wyników z pierwszej transzy, Zamawiający zastrzega sobie możliwość konsultacji i uzgodnienia z Wykonawcą przejścia, dla mniejszej liczby próbek, na technologię WES-Agilent SureSelect kitem V6 na NovaSeq600 2x150 bp z pokryciem 50x on-target, 9 Gbp. | Dla wszystkich próbek spełniających kryteria ilościowe i jakościowe | W cenie usługi |
| **5. Wstępna obróbka informatyczna i raport podsumowujący przebieg sekwencjonowania** Analiza informatyczna obejmować będzie demultipleksing i przycinanie adaptorów. Raport zawierać będzie: a. Informacje na temat metody i procedury sekwencjonowania b. Informacje odnośnie analizy danych c. Zbiorcze podsumowanie eksperymentu (kontrola jakości bibliotek i przebiegu sekwencjonowania dla każdej próbki, ocena pokrycia sekwencji).  | Dla wszystkich próbek spełniających kryteria ilościowe i jakościowe  | W cenie usługi |
| **6. Dostarczenie danych z sekwencjonowania**Przekazanie Zamawiającemu uzyskanych zbiorów wynikowych w postaci wygenerowanych automatycznie plików sekwencji oraz plików wynikowych w formacie FASTQ – upload na serwer FTP Politechniki Śląskiej , w terminie do 4 tygodni od weryfikacji parametrów jakościowych dostarczonego materiału. | Dla wszystkich próbek spełniających kryteria ilościowe i jakościowe  | W cenie usługi |
| **Łączna wartość** | Zgodna z liczbą zsekwencjonowanych próbek (50) |  |
| **Termin ważności oferty** |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Lp.** | **Opis przedmiotu usługi** | **Przewidywana liczba próbek** | **Cena za jedną zsekwencjonowaną próbkę: … EURO** |
| 1 | **Część II : Wykonanie sekwencjonowania RNAseq próbek mRNA dostarczonych przez Zamawiającego, z wykorzystaniem platformy Illumina.** |
| **1. Dostarczenie próbek do Wykonawcy**Koszty transportu próbek (z wkładami chłodzącymi) pokrywa Wykonawca (koszty jednokrotnego transportu próbek na każdą z transz). W przypadku negatywnej weryfikacji jakości próbek, wykonawca pokrywa koszty jednokrotnego dostarczenia dodatkowego materiału na każdą z transz. Strona zamawiająca wyśle próbki w 1 lub 2 transzach. Przewidywany termin wysyłki materiału – 1.połowa 2022. | 60-70 próbek | W cenie usługi |
| **2. Ocena jakości oraz ilości dostarczonego materiału**Wykonawca dokona oceny parametrów jakościowych (czystości, integralności oraz ilości) dostarczonych próbek metodami fluoroscencyjnymi (analiza ilościowa), spektrofotometrycznymi (analiza czystości) oraz zastosuje elektroforezę żelową (w celu dokonania oceny integralności materiału). W przypadku niespełnienia kryteriów, do sekwencjonowania skierowana będzie odpowiednio mniejsza ilość prób - po konsultacji z Zamawiającym. | Dla wszystkich dostarczonych próbek | W cenie usługi |
| **3. Przygotowanie bibliotek do sekwencjonowania na platformie Illuminy**Do przygotowania bibliotek użyty zostanie zestaw TruSeq Stranded mRNA z uwzględnieniem wzbogacenia frakcji polyA oraz fragmentacji RNA. Biblioteki zostaną zweryfikowane pod kątem jakościowym przy użyciu qPCR oraz sprawdzone pod kątem długości fragmentów przy użyciu platformy Bioanalyzer lub Tapestation.Po otrzymaniu wyników z pierwszej transzy, Zamawiający zastrzega sobie możliwość konsultacji i uzgodnienia z Wykonawcą ewentualnej weryfikacji pod kątem liczby próbek | Dla wszystkich próbek spełniających kryteria ilościowe i jakościowe | W cenie usługi |
| **4. Sekwencjonowanie wygenerowanych bibliotek**~~Było: Na platformie NovaSeq6000 z zachowaniem następujących parametrów sekwencjonowania: przynajmniej 60M sparowanych odczytów/próbkę, długość odczytów: do 200 bp~~Jest: Minimum 60 milionów odczytów parowanych (30 milionów par odczytów/30 milionów klastrów) o długości minimum 150 par zasad (minimum 6Gpz na próbkę) wygenerowanych na platformach wykorzystujących chemię dwukanałową (e.g. NextSeq550, NovaSeq6000) | Dla wszystkich próbek spełniających kryteria ilościowe i jakościowe | W cenie usługi |
| **5. Wstępna obróbka informatyczna i raport podsumowujący przebieg sekwencjonowania** Analiza informatyczna obejmować będzie demultipleksing i przycinanie adaptorów. Raport zawierać będzie: a. Informacje na temat metody i procedury sekwencjonowania b. Informacje odnośnie analizy danych c. Zbiorcze podsumowanie eksperymentu (kontrola jakości bibliotek i przebiegu sekwencjonowania dla każdej próbki, ocena pokrycia sekwencji).  | Dla wszystkich próbek spełniających kryteria ilościowe i jakościowe  | W cenie usługi |
| **6. Dostarczenie danych z sekwencjonowania**Przekazanie Zamawiającemu uzyskanych zbiorów wynikowych w postaci wygenerowanych automatycznie plików sekwencji oraz plików wynikowych w formacie FASTQ – upload na serwer FTP Politechniki Śląskiej, w terminie do 6 tygodni od weryfikacji parametrów jakościowych dostarczonego materiału. | Dla wszystkich próbek spełniających kryteria ilościowe i jakościowe  | W cenie usługi |
| **Łączna wartość** | Zgodna z liczbą zsekwencjonowanych próbek (70) |  |
| **Termin ważności oferty** |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Lp.** | **Opis przedmiotu usługi** | **Przewidywana liczba próbek** | **Cena za jedną zsekwencjonowaną próbkę: … EURO** |
| 1 | **Część III: Wykonanie sekwencjonowania całogenomowego (WGS) próbek DNA dostarczonych przez Zamawiającego, z wykorzystaniem platformy Illumina.** |
| **1. Dostarczenie próbek do Wykonawcy**Koszty transportu próbek (z wkładami chłodzącymi) pokrywa Wykonawca (koszty jednokrotnego transportu próbek na każdą z transz). W przypadku negatywnej weryfikacji jakości próbek, wykonawca pokrywa koszty jednokrotnego dostarczenia dodatkowego materiału na każdą z transz. Strona zamawiająca wyśle próbki w 1 lub 2 transzach. Przewidywany termin wysyłki materiału – VII-XII 2021. | 10-15 próbek | W cenie usługi |
| **2. Ocena jakości oraz ilości dostarczonego materiału**Wykonawca dokona oceny parametrów jakościowych (czystości, integralności oraz ilości) dostarczonych próbek metodami fluoroscencyjnymi (analiza ilościowa), spektrofotometrycznymi (analiza czystości) oraz zastosuje elektroforezę żelową (w celu dokonania oceny integralności materiału). W przypadku niespełnienia kryteriów, do sekwencjonowania skierowana będzie odpowiednio mniejsza ilość prób - po konsultacji z Zamawiającym. | Dla wszystkich dostarczonych próbek | W cenie usługi |
| **3. Przygotowanie bibliotek do sekwencjonowania na platformie Illuminy**Do przygotowania bibliotek użyty zostanie zestaw TruSeq DNA nano z insertem 350. Biblioteki zostaną zweryfikowane pod kątem jakościowym przy użyciu qPCR oraz sprawdzone pod kątem długości fragmentów przy użyciu platformy Bioanalyzer lub Tapestation. | Dla wszystkich próbek spełniających kryteria ilościowe i jakościowe | W cenie usługi |
| **4. Sekwencjonowanie wygenerowanych bibliotek**Na platformie Illuminy NovaSeq6000 z zachowaniem następujących parametrów sekwencjonowania: konfiguracja 2x150 (pair end), średnie pokrycie ~30x (gwarantowana ilość danych 110 Gbp).  | Dla wszystkich próbek spełniających kryteria ilościowe i jakościowe | W cenie usługi |
| **5. Wstępna obróbka informatyczna i raport podsumowujący przebieg sekwencjonowania** Analiza informatyczna obejmować będzie demultipleksing i przycinanie adaptorów. Raport zawierać będzie: a. Informacje na temat metody i procedury sekwencjonowania b. Informacje odnośnie analizy danych c. Zbiorcze podsumowanie eksperymentu (kontrola jakości bibliotek i przebiegu sekwencjonowania dla każdej próbki; opracowanie statystyczne - ocena jakości sekwencjonowania i pokrycia sekwencji).  | Dla wszystkich próbek spełniających kryteria ilościowe i jakościowe  | W cenie usługi |
| **C.6. Dostarczenie danych z sekwencjonowania**Przekazanie Zamawiającemu uzyskanych zbiorów wynikowych w postaci wygenerowanych automatycznie plików sekwencji oraz plików wynikowych w formacie FASTQ – upload na serwer FTP Politechniki Śląskiej , w terminie do 6 tygodni od weryfikacji parametrów jakościowych dostarczonego materiału. | Dla wszystkich próbek spełniających kryteria ilościowe i jakościowe  | W cenie usługi |
| **7 . Zwrot niewykorzystanego DNA**Przesyłka kurierska z wkładem chłodzącym, w terminie do 12 tygodni od dnia udostępnienia wyników sekwencjonowania. | Dla wszystkich niewykorzystanych próbek  | W cenie usługi |
| **Łączna wartość** | Zgodna z liczbą zsekwencjonowanych próbek (15) |  |
| **Termin ważności oferty** |  |

1. Zastrzeżenia dodatkowe
	1. Wykonawca nie rości sobie żadnych praw autorskich do wygenerowanych danych i nie będzie ich wykorzystywał w jakikolwiek sposób do własnych celów (np. budowa bazy danych). Wszystkie wygenerowane dane stanowią całkowitą własność intelektualną strony zamawiającej.
	2. Usługa stanowiąca przedmiot przetargu nie będzie realizowana w kolaboracji z innymi podmiotami lub przy użyciu podwykonawców lub pośredników.
	3. Należność za prawidłowo wykonaną usługę nastąpi w terminie 30 dni od dostarczenia przez Wykonawcę faktury. Faktura będzie wystawiana przez Wykonawcę po wykonaniu każdej części usługi sekwencjonowania **w wysokości zgodnej z liczbą faktycznie zsekwencjonowanych prób**. Liczba ta może być niższa niż podana w tabeli w punkcie 2.
	4. W przypadku konieczności wykonania dodatkowych (nieobjętym niniejszym postępowaniem) sekwencjonowań na dostarczonym materiale, Zamawiający zawiadomi o tym Wykonawcę w terminie nieprzekraczającym 8 tygodni po udostępnieniu wyników sekwencjonowania. W braku takiego zawiadomienia, niewykorzystany materiał biologiczny zostaje zutylizowany albo zwrócony Zamawiającemu w trybie określonym w Tabeli (część III).
	5. Podstawą realizacji zamówienia będzie zlecenie bez umowy usługi Wykonawcy z najkorzystniejszą ofertą ocenioną na podstawie kryteriów oceny ofert, potwierdzone informacją o wyborze umieszczoną na stronie internetowej BIP Zamawiającego, na warunkach opisanych w punktach powyżej.