

Pytania do postępowania 14/P/2021:

**1. Czy Zamawiający dopuści do złożenia oferty na aparat real-time PCR o wymienionych parametrach:**

- „1. Urządzenie umożliwiające przeprowadzanie ilościowej reakcji PCR w czasie rzeczywistym z użyciem barwników fluorescencyjnych - **LightCycler®96 Instrument**
2. Jednoczesna amplifikacja i detekcja do 96 prób na płytkach 96-dołkowych lub paskach / stripach (po 8 probówek).
  3. Zakres objętości mieszaniny reakcyjnej, w której można przeprowadzić reakcję PCR: 10 - 50µl.
  4. Szybkość nagrzewania bloku do 4,4°C / sek.
  5. Szybkość chłodzenia bloku do 2,2°C / sek.
  6. Zakres temperatur bloku: 37 - 98°C
  7. Zużycie prądu max 600W (1 run HRM 0.9 kWh)
  8. Urządzenie emitujące do 43 dB w trakcie pracy
  9. Średnie STD powtórzeń dla punktów w zakresie stężeń 1-10E9 równy mniej niż 0.2 Cq
  10. Homogenność termiczna bloku: ±0,3°C
  11. Dokładność termiczna: ±0,2°C
  12. Materiał z jakiego wykonana jest powierzchnia bloku: srebro
  13. Blok z opcją gradientu
    - zakres nastawialnej temperatury dla reakcji z wykorzystaniem opcji gradientu: maksymalnie 20°C (w całkowitym zakresie temperatur 37 - 98°C)
    - Możliwość uzyskania w trakcie reakcji 12 różnych temperatur w obrębie płytki 96 dołkowej
  14. Temperatura pokrywy grzejnej bloku: 105°C ±3°C
  15. Wzbudzenie: pojedyncza dioda LED zainstalowana na stałe w aparacie (brak elementów ruchomych związanych z elementem wzbudzenia aparatu)
    - Jednoczesne wzbudzenie fluorescencji wszystkich prób
    - średni okres żywotności diody: ok. 10 000 godzin
  16. System detekcyjny: kamera CCD
    - czas pomiaru fluorescencji wszystkich prób przez kamerę CCD w trybie dynamicznym w zakresie: 10 ms - 1 sek.
    - czas pomiaru fluorescencji prób przez kamerę CCD w trybie manualnym: do 4 sek.
  17. Analiza krzywej topnienia - ciągły, nieprzerwany i jednoczesny pomiar fluorescencji wszystkich prób w ustalonym zakresie temperatur.

18. Aparat wyposażony w cztery kanały detekcji o następującym układzie filtrów wzbudzających / detekcyjnych:

- 1. 470 / 514nm
- 2. 533 / 572nm
- 3. 577 / 620nm
- 4. 645 / 697,5nm

19. Przekazywanie sygnału fluorescencyjnego z prób do systemu detekcyjnego za pośrednictwem światłowodów.

20. Urządzenie nie wymaga przeprowadzania żadnych okresowych kalibracji systemu optycznego związanych z wykorzystaniem różnych barwników fluorescencyjnych lub stosowanych rodzajów analiz w celu zapewnienia optymalnego działania.

21. Urządzenie nie wymagające normalizacji z barwnikiem referencyjnym typu Rox.

21. Możliwość podłączenia czytnika kodów kreskowych do odczytu kodów drukowanych na płytkach 96-dołkowych (opcjonalnie).

22. Urządzenie wyposażone w ekran dotykowy umożliwiający sterowanie / programowanie bez pośrednictwa komputera.

- rozdzielczość ekranu 800 x 600 pikseli

23. Możliwość sterowania aparatem bez podłączania do komputera, w zakresie:

- możliwość utworzenia i zapisania do 50 eksperymentów w pamięci wewnętrznej urządzenia
- sortowanie plików (po nazwie, dacie, statusie)
- możliwość edycji protokołu reakcji oraz kontroli stanu reakcji (start, koniec)
- możliwość dodawania cykli w czasie trwania reakcji
- możliwość otrzymania informacji o zakończeniu reakcji drogą elektroniczną (na podany adres e-mail)
- możliwość wprowadzania protokołów reakcji poprzez wbudowany w urządzenie port USB

24. System umożliwiający analizę kwasów nukleinowych przy pomocy różnych barwników i sond molekularnych:

- Barwnik interkalujący SYBR Green I
- Barwnik interkalujący typu LC Green, ResoLight Dye (lub podobny)
- Sonda hydrolizująca typu TaqMan®

25. Oprogramowanie urządzenia wyposażone w dedykowane moduły do analizy:

- ilościowej – analiza bezwzględna umożliwiająca pomiar ilości kopii DNA w badanej próbce w oparciu o:

1. krzywą standardową (oprogramowanie podaje wartości wydajności reakcji, nachylenia krzywej, błędu standardowego oraz współczynnik R<sup>2</sup>)

- ilościowej – analiza względna umożliwiająca pomiar poziomu ekspresji genu badanego w stosunku do genu referencyjnego w oparciu o:

1. krzywą standardową (oprogramowanie podaje wartości wydajności reakcji, nachylenia krzywej, błędu standardowego oraz współczynnik R<sup>2</sup>)

2. ręcznie wprowadzoną wartością wydajności, gdzie  $E=2$  oznacza wydajność reakcji 100%.

3. Możliwość zdefiniowania próbki jako run calibrator i study calibrator celem wyznaczenia stosunku znormalizowanego i wyskalowanego.

- genotypowania typu end-point przy pomocy sond hydrolizujących do wykrywania mutacji (analiza dyskryminacji alleli)

- krzywej topnienia

- High Resolution Melting (HRM) / Gene Scanning (analiza mutacji / SNP) z możliwością automatycznego grupowania prób o podobnym profilu

- do analizy jakościowej (wykrywanie obecności badanego DNA bez określania parametrów ilościowych; możliwość dodania kontroli wewnętrznej reakcji – kontrola amplifikacji).

Opcje przeprowadzenia analizy z jednym barwnikiem (ustawienie mono-color) lub dwoma / większą liczbą barwników (ustawienie dual- / multi-color)

Oprogramowanie z automatyczną możliwością oznacza próbki jako positive, negative, invalid lub inconsistent

27. Możliwość ustalenia przy analizie prób wartości fluorescencji punktu końcowego (EPF) czyli progu odcięcia dla prób pozytywnych (bez zmiany wartości  $C_q$  dla prób).

28. Możliwość podglądu wyników wykonanego eksperymentu pod postacią *Mapy ciepła*:

- szybka ocena rozkładu wyników w obrębie analizowanych prób (m.in. rozkład prób pozytywnych / negatywnych, rozkład wartości  $C_q$ , stężenia, fluorescencji punktu końcowego oraz genotypów – w zależności od wykonanej analizy).

29. Możliwość podglądu uzyskanych wartości  $C_q$  w formie wykresu słupkowego

30. Możliwość importu / eksportu informacji o próbach do / z oprogramowania z wykorzystaniem plików o formatach \*.txt oraz \*.csv oraz możliwość eksportu wykresów w formatach \*.png, \*.gif i \*.txt

31. Możliwość eksportu wyników w postaci plików w formacie \*.txt.

32. Intuicyjny interfejs oprogramowania do analizy z możliwością modyfikacji w celu dopasowania do potrzeb chwili (niezależnie dla każdego eksperymentu)

33. Możliwość automatycznego definiowania próbek krzywej standardowej.

34. Eksport plików / eksperymentów w formacie:

- \*.lc96

- \*.rdml (możliwość utworzenia pliku zawierającego informacje o eksperymencie w zewnętrznym oprogramowaniu do analizy danych)

35. Oprogramowanie z możliwością wyboru typu przeprowadzanej reakcji PCR:

- standardowa,

- z wykorzystaniem gradientu temperatur w podanym zakresie,

- z wykorzystaniem reakcji Touchdown PCR.

36. Możliwość obserwowania przeprowadzanej reakcji PCR na bieżąco podczas jej trwania (online) zarówno w postaci krzywych fluorescencji jak i fluorescencyjnej Mapy ciepła
37. Opcja powiadomienia o zakończeniu reakcji PCR na podany adres e-mail
  - możliwość wpisania do 50 adresów e-mail.
  - możliwość otrzymywania na podany adres e-mail pliku zawierającego wyniki przeprowadzonego eksperymentu.
38. Możliwość zestawienia wyników z różnych eksperymentów w jednym pliku w formacie \*.txt
39. Możliwość utworzenia pliku z podsumowaniem reakcji PCR (m.in. parametry reakcji PCR, opis próbek, wyniki, wykresy) w formacie \*.html
40. Urządzenie spełnia wytyczne MIQE (Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments).
41. Dostępność w ofercie katalogowej zestawów odczynników dostosowanych i zoptymalizowanych do pracy na aparacie.
42. Dostępność w ofercie katalogowej gotowych zestawów / bibliotek sond molekularnych umożliwiających analizę cDNA / DNA człowieka, myszy, szczura i innych z możliwością:
  - projektowania reakcji za pośrednictwem darmowego oprogramowania dostępnego online,
  - zamówienia zaprojektowanego układu sond na płytce 96-dołkowej w formie liofilizatu,
  - otrzymania potwierdzenia działania zaprojektowanego układu w formie elektronicznej / papierowej, z uwzględnieniem informacji na temat specyficzności reakcji (zdjęcie żelu) oraz jej wydajności (dostępne tylko na życzenie Zamawiającego).
43. Minimalne wymagania dotyczące komputera sterującego urządzeniem:
  - Procesor: Intel Core 2 duo 2.4 GHz
  - Pamięć RAM: 2 GB
  - Dysk twardy: 250 GB
  - LAN: RJ45 Ethernet (100 MBit)
  - Port USB: USB 2.0
  - Rozdzielczość ekranu: 1280 \* 1024
  - System operacyjny: Microsoft Windows XP / Microsoft Windows 7 (32bit)
  - Zainstalowany Microsoft .NET Framework 4.0
44. Możliwość dokumentacji wyniku autotestu przeprowadzanego każdorazowo po uruchomieniu aparatu.
45. Możliwość zdalnego serwisu.
46. Dostępność opracowanych przez producenta procedur kwalifikacji instalacyjnej i operacyjnej aparatu.

**Cechy decydujące o unikalności urządzenia / cechy wyróżniające produkt na tle aktualnej oferty rynkowej:**

- 1. System optyczny złożony z pojedynczej, nieruchomej diody LED, 4 par filtrów optycznych oraz kamery CCD.**
2. Możliwość sterowania aparatem za pośrednictwem komputera lub poprzez wbudowany w aparat duży ekran dotykowy.
3. Wysoka homogenność i dokładność termiczna pokrytego srebrem bloku.
4. Blok gradientowy (ustawienie gradientu w zakresie 37 - 98°C, maksymalna różnica między ustawionymi skrajnymi temperaturami 20°C).
- 5. Urządzenie niewymagające po instalacji żadnych dodatkowych kalibracji systemu optycznego, związanych z wykorzystaniem różnych barwników fluorescencyjnych lub przeprowadzanych analiz.**
- 6. Możliwość jednoczesnego pomiaru fluorescencji badanych prób.**
7. Krótki czas reakcji – ok. 60 minut dla standardowej reakcji PCR.
8. Zaawansowane opcje oprogramowania do analizy danych."

Odpowiedź:

**Zmawiający nie dopuszcza oferty na aparat o parametrach wymienionych z załączniku.**

**Zamawiający podtrzymuje zapisy specyfikacji technicznej i zgodnie z tymi zapisami wymaga, aby urządzenie do analizy Real-Time PCR posiadało w szczególności następujące cechy:**

**-Musi posiadać gradient termiczny umożliwiający jednoczesną optymalizację warunków reakcji, dla, co najmniej 8 reagentów**

**-Maksymalna rozpiętość programowalnego zakresu gradientu termicznego, co najmniej 24 °C. Gradient musi być dynamiczny**

**Natomiast**

**-Oprogramowanie, jako zintegrowane z nim funkcje, musi zawierać możliwość analizy ANOVA oraz za pomocą testu normalności Shapiro-Wilka oraz umożliwiać analizę genów pod kątem ich stabilności w celu wybrania genu/ów referencyjnych**

**- Każdy kanał pomiarowy musi być wyposażony w indywidualną diodę LED o długości światła optymalnej do barwników przypisanych do każdej z nich, co uniemożliwia nakładanie się sygnałów.**

**- Źródło światła: diody LED- zwiększający żywotność systemu i zapewniający jego bezproblemową eksploatację**

**Są to kluczowe elementy które pozwolą na optymalne wykonanie zaplanowanych eksperymentów, a nie są uwzględnione w załączniku.**

**DYREKTOR**  
Instytutu Genetyki Człowieka PAN  
  
Prof. dr hab. med. Michał Witt

