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.