**Szczegółowy opis przedmiotu zamówienia**

1. Zamawiający zleci Wykonawcy wykonanie usługi obejmującej:

**Pozycja nr 1:** Wykonanie usługi sekwencjonowania nowej generacji NGS transkryptomu dla 10 próbek RNA (ze sprawdzeniem jakości RNA i przygotowaniem bibliotek),

oraz

**Pozycja nr 2**: Wykonanie usługi sekwencjonowania transkryptomu pojedynczych komórek   
(scRNA-seq) dla 1 próbki stanowiącej pulę maksymalnie 12 połączonych bibliotek.

1. Usługi wykonane zostaną z wykorzystaniem materiału dostarczonego przez Zamawiającego:
   1. Pozycja nr 1 – całkowite RNA o następujących parametrach:

|  |  |
| --- | --- |
|  | mRNA |
| Stężenie: | 20ng/ul |
| RIN: | >7.0 |
| Objętość: | 50ul |
| Ilość całkowita: | 1µg |

* 1. Pozycja nr 2 - Próbka stanowiąca pulę 12 połączonych bibliotek:

|  |  |
| --- | --- |
|  | Biblioteka scRNA-seq |
| Stężenie: | 10nM |

1. Przedmiotem postępowania w zakresie pozycji nr 1 usługi jest:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Lp.** | **Opis przedmiotu usługi \*** | **Ilość** |
| 1. | Uzyskanie sekwencji transkryptomowych dla 10 próbek RNA, po 45Gpz danych na próbkę (2x150 sparowanych odczytów; 150 mln odczytów/próbkę). | 10 |
|  | **Pkt 1 obejmuje następujące etapy:** |  |
| 1a | **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). | Dla wszystkich dostarczonych próbek |
| 1b | **Przygotowanie bibliotek do sekwencjonowania kompatybilnych z platformą Illuminy** z użyciem **zestawu TruSeq mRNA stranded** (TruSeq Stranded mRNA Sample Preparation Guide, Part #15031047 Rev. E) **z modyfikacją protokołu w zakresie fragmentacji RNA: 90oC przez 2 minuty.** Po przygotowaniu biblioteki zweryfikowane zostaną pod względem ilościowym przy użyciu qPCR, sprawdzone pod względem jakościowym przy użyciu TapeStation. | Dla wszystkich próbek spełniających kryteria ilościowe i jakościowe |
| 1c | Sekwencjonowanie wygenerowanych bibliotek na platformie Illuminy:  Illumina NovaSeqX w konfiguracji 2x150bp, do uzyskania 45Gpz danych na próbkę. | Dla wszystkich próbek spełniających kryteria ilościowe i jakościowe. |

4. Przedmiotem postępowania w zakresie pozycji nr 2 usługi jest:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Lp.** | **Opis przedmiotu usługi \*** | **Ilość** |
| 2. | Wykonanie usługi sekwencjonowania transkryptomu pojedynczych komórek dla maksymalnie 12 próbek połączonych w jedną bibliotekę po 150Gpz danych na próbkę (2x150 sparowanych odczytów; 350mln odczytów/próbkę), czyli 1,2Tpz danych na bibliotekę (2x150 sparowanych odczytów x 350 mln odczytów/próbkę x liczba próbek) | 1 |
|  | **Pkt 2 obejmuje następujące etapy:** |  |
| 2a | Library QC (DNA/RNA) - General | 1 |
| 2b | Sekwencjonowanie połączonych bibliotek dostarczonych przez Zamawiającego na platformie Illuminy:  Illumina NovaSeqX w konfiguracji: 1 scieżka 25B i jedna ścieżka 10B z ewentualną możliwością dosekwencjonowania w przypadku niedoboru danych w tzw. troughput- based run | Dla próbki spełniającej kryteria ilościowe. |

5. Etapy wspólne przedmiotu postępowania dla obu pozycji (tj. pozycji nr 1 i 2) usługi:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Lp.** | **Opis przedmiotu usługi \*** | **Ilość** |
| 3. | **Dostarczenie próbek do Wykonawcy**  Koszty transportu próbek (transport lotniczy w suchym lodzie) pokrywa Wykonawca. Strona Zamawiająca wysyłać będzie próbki w 1 transzy (prawdopodobnie liczących połączoną bibliotekę z 12 próbek oraz 10 próbek RNA). W przypadku negatywnej weryfikacji jakości próbek, Wykonawca pokrywa koszty jednokrotnego dostarczenia dodatkowego materiału. | 1 przesyłka |
| 4. | **Wstępna obróbka informatyczna i wygenerowanie raportu podsumowującego przebieg sekwencjonowania**  Analiza informatyczna obejmować będzie demultipleksing i przycinanie adaptorów. Raport zawierał będzie:  a. Informacje na temat metody i procedury sekwencjonowania  b. Informacje odnośnie analizy danych  c. Zbiorcze podsumowanie eksperymentu (informacje dotyczące próbek, kontroli jakości bibliotek, samego przebiegu sekwencjonowania oraz opracowanie statystyczne pozwalające na ocenę jakości sekwencjonowania i pokrycia próbek). | Dla wszystkich próbek spełniających kryteria ilościowe i jakościowe |
| 5. | Dostarczenie skompresowanych danych z sekwencjonowania za pomocą linku z możliwością pobrania danych z chmury | - |
| 6. | Spersonalizowany dostęp do systemu zarządzania (LIMS) celem weryfikacji aktualnego statusu eksperymentu | - |
| 7. | Bieżące informowanie Zamawiającego o postępach i etapach pracy poprzez regularną komunikację z dedykowanym managerem projektu. | - |
| 8. | Usługa obejmuje wsparcie techniczne i opiekę techniczną nad użytkownikiem. | - |
| 9. | Wykonawca zapewnia, że wszystkie wygenerowane dane zostaną usunięte maksymalnie po 6 miesiącach licząc od dnia dostarczenia Zamawiającemu danych, po wcześniejszym kontakcie z Zamawiającym, celem potwierdzenia usunięcia danych.  Wszystkie wygenerowane dane stanowią całkowitą własność intelektualną strony Zamawiającej i nie będą wykorzystane na potrzeby własne Wykonawcy. | - |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 10. | Zwrot niewykorzystanego materiału (przesyłka kurierska w suchym lodzie), po zakończeniu sekwencjonowania na adres Zamawiającego:  Małgorzata Dawidowska  Instytut Genetyki Człowieka PAN  ul. Strzeszyńska 32 60-479 Poznań | - |

\* Zamawiający nie wyraża zgodny na zmiany w opisie przedmiotu usługi.

6. Analizy zostaną wykonane na obszarze Unii Europejskiej zgodnie z rekomendacją Polskiego Komitetu Genetyki Człowieka i Patologii Molekularnej (zgodnie z stanowiskiem KGCiPM w sprawie testów genetycznych i badań genomowych zlecanych za granicą z dnia 26.07.2021r.).

7. **Za prawidłowe wykonanie usługi uważa się:**

* Sprawdzenie jakości i ilości próbek RNA dostarczonych przez Zamawiającego, wygenerowanie raportu z oceny jakościowej i ilościowej próbek i udostępnienie raportu Zamawiającemu.
* Przygotowanie bibliotek do sekwencjonowania mRNA, zgodnie z opisem w pkt. 1b tabeli., wyniki kontroli jakości bibliotek uwzględnione w raporcie. Długość bibliotek powinna wynosić więcej niż 440nt (co przy założonych parametrach 2x150 PE reads oraz przy zastosowaniu adapterów o długości 70 nt, pozwoli na zminimalizowanie liczby nakładających się odczytów sparowanych).
* Wykonanie usługi sekwencjonowania mRNA na platformie Illumina Novaseq X, w konfiguracji 2x150bp, do uzyskania 45Gpz danych na próbkę oraz przeprowadzenie analizy bioinformatycznej, zgodnie z opisem w tabeli , pkt 4.
* Sprawdzenie jakości i ilości dostarczonej przez Zamawiającego biblioteki do scRNA-seq, wygenerowanie raportu z oceny jakościowej i ilościowej i udostępnienie raportu Zamawiającemu.
* Wykonanie usługi sekwencjonowania dostarczonej puli bibliotek scRNA, zgodnie z opisem w pkt. 2, a,b tabeli., w konfiguracji 2x150 sparowanych odczytów; 350mln odczytów/próbkę), czyli 1,2Tpz Gpz danych na bibliotekę (2x150 sparowanych odczytów x 350 mln odczytów/próbkę 12 liczba próbek) wyniki kontroli jakości bibliotek uwzględnione w raporcie.
* dostarczanie wyników wraz z analizą bioinformatyczą i końcowym raportem jakości bezpośrednio po wykonaniu usługi za pomocą linku z możliwością pobrania plików z chmury, zgodnie z opisem w tabeli.
* bieżące informowanie kierownika projektu: Małgorzata Dawidowska ([malgorzata.dawidowska@igcz.poznan.pl](mailto:malgorzata.dawidowska@igcz.poznan.pl)) o postępie w realizacji zlecenia.

8. Czas realizacji usługi sekwencjonowania wraz z analizą bioinformatyczną nie powinien przekroczyć 4 tygodni licząc od momentu przeprowadzenia kontroli jakości otrzymania próbek.

9. Należność za prawidłowo wykonaną usługę nastąpi w terminie do 30 dni od dostarczenia przez Wykonawcę faktury.

10. Usługa nie będzie realizowana w kolaboracji z innymi podmiotami lub podwykonawcami.