

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

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

- II. Pozycja nr 2 - Próbką stanowiącą pulę 12 połączonych bibliotek:

	Biblioteka scRNA-seq
Stężenie:	10nM

3. 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
<b>Pkt 1 obejmuje następujące etapy:</b>		
1a	<b>Ocena jakości oraz ilości dostarczonego materiału</b> 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	<b>Przygotowanie bibliotek do sekwencjonowania kompatybilnych z platformą Illuminy z użyciem zestawu TruSeq mRNA stranded</b> (TruSeq Stranded mRNA Sample Preparation Guide, Part #15031047 Rev. E) <b>z modyfikacją protokołu w zakresie fragmentacji RNA: 90°C przez 2 minuty.</b> 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 150Gpb danych na próbkę (2x150 sparowanych odczytów; 350mln odczytów/próbkę), czyli 1,2Tpb danych na bibliotekę (2x150 sparowanych odczytów x 350 mln odczytów/próbkę x liczba próbek)	1
	<b>Pkt 2 obejmuje następujące etapy:</b>	
2a	Library QC (DNA/RNA) - General	1
2b	Sekwencjonowanie połączonych bibliotek dostarczonych przez Zamawiającego na platformie Illuminy: Illumina NovaSeqX w konfiguracji: 1 ścieżka 25B i jedna ścieżka 10B z ewentualną możliwością dosekwencjonowania w przypadku niedoboru danych w tzw. throughput- 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.	<b>Dostarczenie próbek do Wykonawcy</b> Koszty transportu próbek (transport lotniczy w suchym lodzie) pokrywa Wykonawca. Strona Zamawiająca wysłać 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.	<b>Wstępna obróbka informatyczna i wygenerowanie raportu podsumowującego przebieg sekwencjonowania</b> 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 (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 zgody 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 KG CiPM w sprawie testów genetycznych i badań genomowych zleczanych 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 bioinformatyczną 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.