

Przedmiotem zamówienia jest usługa uzyskania sekwencji całogenomowych próbek ludzkich z mapowalnym pokryciem przynajmniej x30 wraz z analizą bioinformatyczną otrzymanych danych oraz sekwencjonowanie w technologii Illumina NovaSeq uprzednio częściowo przygotowanych bibliotek. Przedmiot zamówienia został podzielony na trzy Zadania (Części):

I. **Zadanie nr 1** – obejmuje usługę uzyskania sekwencji całogenomowych próbek ludzkich z mapowalnym pokryciem przynajmniej x30 wraz z analizą bioinformatyczną otrzymanych danych. Usługa zostanie wykonana z wykorzystaniem materiału DNA dostarczonego przez Zamawiającego, o następujących parametrach:

- a) stężenie > 50 ng/ul
- b) czystość (A260/A280) > 0.7
- c) objętość > 20 ul
- d) ilość całkowita (wersja podstawowa) > 1000 ng

1. Szczegółowy sposób realizacji usługi obejmuje:

Lp.	Opis przedmiotu usługi	Ilość	Należność
1.	– usługa obejmuje uzyskanie sekwencji całogenomowych oraz pełną analizę bioinformatyczną próbek <i>Homo sapiens</i> do osiągnięcia mapowalnego pokrycia co najmniej x30 (minimum 120 Gbp danych na próbkę); – stworzenie biblioteki PCR-Free, z insertem o długości 350 bp, oryginalnym zestawem Illumina TruSeq DNA lub alternatywnym z zachowaniem parametrów jakościowych; – platforma do sekwencjonowania: NovaSeq X; – konfiguracja: 2x150bp; – całkowita ilość próbek 11 próbek; – próbki dostarczone będą w jednej partii;	11 próbek	*należy wskazać jednostkową cenę dla 1 próbki 11 próbek x cena jednostkowa = wartość : ____ (podać rodzaj waluty PLN, EURO....)
2.	Strona zamawiająca dostarczy na koszt Wykonawcy wyizolowany gDNA, po czym Wykonawca: a. 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): i. w przypadku próbek niespełniających kryteriów jakościowych, Wykonawca jednokrotnie pokryje koszty transportu próbek zapasowych; ii. Wykonawca zezwala na dostarczenie próbek zapasowych w terminie do 3 miesięcy liczonego od czasu dostarczenia próbek oryginalnych. b. Przygotuje biblioteki do sekwencjonowania kompatybilne z platformą Illuminy: i. w zależności od parametrów wejściowych próbek, strona zamawiająca zastrzega sobie prawo do wyboru protokołu przygotowania biblioteki (z krokiem PCR lub bez); ii. biblioteki przygotowane będą przy użyciu oryginalnych, licencjonowanych i zweryfikowanych materiałów Illuminy. Strona zamawiająca dopuszcza użycie nieoryginalnych	Zgodna z liczbą próbek	w cenie usługi

	odpowiedników, z zachowaniem zwalidowanej jakości nieodbiegającej od materiałów Illuminy; iii. sposób przygotowania bibliotek zapewni 100% kompatybilność z platformami Illuminy (sekwencje adapterów i długość insertu). iv. po przygotowaniu biblioteki zostaną zweryfikowane, a następnie sprawdzone pod kątem długości fragmentów przy użyciu chipa DNA1000 na platformie Bioanalyzer 2100. c. Dokona sekwencjonowania przygotowanych bibliotek na platformie Illumina NovaSeq X w trybie odczytów sparowanych 2x150bp: i. dla każdej próbki strona zamawiająca wymaga uzyskania przynajmniej 120 Gp z danych, pozwalając na uzyskanie mapowalnej głębokości rzędu x30; ii. przynajmniej 80% zsekwencjonowanych par zasad powinno mieć jakość Q30 lub więcej. d. Po ukończeniu sekwencjonowania wykonawca dostarczy: i. raport zawierający podsumowanie zastosowanej metody, a także parametry podsumowujące sekwencjonowanie każdej z próbek (ilość przeczytanych par zasad, proporcje GC, wykresy podsumowujące jakość cykli); ii. dane w formacie fastq, tj. po konwersji z formatu BCL na format fastq; iii. dla każdej z próbek dostarczone zostaną dwa pliki Fastq (read1 i read2). e. Dokona analizy bioinformatycznej obejmującej: i. analizę standardową ii. filtrowanie i ocenę jakości danych z sekwencjonowania; iii. wywołanie wariantów, w tym także somatycznych: SNP, InDel, CNV, SV wraz z ich opisem, analizą statystyczną oraz opracowaniem wg dostępnych baz danych. f. Wszystkie dane (dane surowe oraz opracowane d, e) zostaną przekazane zamawiającemu poprzez umieszczenie w dedykowanej chmurze lub na serwerze		
	Wyniki z całości eksperymentu udostępnione zostaną stronie zamawiającej w chmurze do przechowywania danych wyłącznie przeznaczonym dla tego projektu i udostępnionym tylko dla Zamawiającego (użytkownika).		*należy wskazać jednostkową cenę
3.	Koszty transportu próbek od Zamawiającego do Wykonawcy (przesyłka kurierska).	Zgodna z liczbą transzy	w cenie usługi dla 10 i więcej próbek

2. Za prawidłowe wykonanie usługi uważa się:

- otrzymanie surowych danych z sekwencjonowania całego genomu dla 11 przesłanych próbek ludzkiego DNA z materiału powierzono przez Zamawiającego;
- wykonanie sekwencjonowania całego genomu na platformie Illumina NovaSeqX, w konfiguracji odczytu 2x150 par zasad (pair end) z insertem 350 bp, o pokryciu min. 30x;
- dostarczenie danych surowych po wykonaniu usługi w terminie do 6 tygodni, począwszy od dnia weryfikacji parametrów jakościowych dostarczonego materiału DNA, spełniającego kryteria wymagane dla tego typu analizy (określone powyżej);

- d) dostarczenie Zamawiającemu danych sekwencjonowania w chmurze do przechowywania danych.
3. Koszt wysyłki próbek DNA z siedziby Zamawiającego do Wykonawcy (transport kurierem) pokrywa Wykonawca.
 4. Czas wykonania usługi nie przekroczy 6 tygodni od momentu pozytywnej weryfikacji jakości próbek.
 5. 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).
 6. Dane zostaną nieodwracalnie usunięte po maksymalnie 6 miesiącach lub na wyraźne życzenie strony zamawiającej.
 7. W ramach usługi, usługodawca zapewnia spersonalizowany dostęp do systemu zarządzania (LIMS) celem weryfikacji aktualnego statusu eksperymentu.
 8. W ramach usługi, zleceniodawca informowany jest na bieżąco o postępach i etapach pracy nad zleconymi próbkami poprzez regularną komunikację z dedykowanym managerem projektu.
 9. Usługa obejmuje wsparcie techniczne i opiekę techniczną nad użytkownikiem.
 10. Eksperyment nie będzie realizowany we współpracy z innymi podmiotami tudzież przy użyciu podwykonawców lub pośredników.
 11. Zapłata należności za prawidłowo wykonaną usługę nastąpi w terminie 30 dni od dostarczenia przez Wykonawcę faktury.
- II. **Zadanie nr 2** – obejmuje usługę częściowego sekwencjonowania pasmowego w technologii Illumina NovaSeq X 25B PE150, częściowo już przygotowanych i powierzonych przez Zamawiającego bibliotek (wielkość opakowania 6 szt., ilość opakowań: 2 szt.), na poziomie minimalnym 275M odczytów sparowanych na próbkę (odpowiednik 83 Gb). Czas wykonania: 13 dni roboczych od momentu pozytywnej weryfikacji jakości próbek. Usługa obejmuje realizację nw. czynności i na następujących zasadach:
- a) kontrola jakości powierzonych bibliotek, czystość i integralność zostaną sprawdzone na żelu agarozowym i bioanalyzer, ilość za pomocą Qubit/qPCR - Zamawiający zostanie poinformowany o wynikach kontroli jakości w osobnym raporcie przed podjęciem decyzji o dalszym procedowaniu próbek;
 - b) sekwencjonowanie zostanie przeprowadzone w technologii Illumina NovaSeq X 25B PE150 na poziomie minimalnym 275M odczytów sparowanych na próbkę, będąc odpowiednikiem 83Gb;
 - c) wygenerowanie przez Wykonawcę raportu podsumowującego przebieg sekwencjonowania, obejmującego informacje na temat metody i procedury sekwencjonowania, informacje odnośnie samego przebiegu sekwencjonowania oraz opracowanie statystyczne pozwalające na ocenę jakości sekwencjonowania i pokrycia próbek;
 - d) obróbkę bioinformatyczną uzyskanych danych, która składać się z kontroli jakości wygenerowanych danych i obejmować będzie filtrowanie odczytów o niskiej jakości i zawierających sekwencje adaptorowe; wyniki jakościowe uzyskanych odczytów Q20, Q30, rozkładu wskaźnika błędu, dystrybucji par GC oraz wszystkie zasady;
 - e) trimming danych (43+10+10+50) pozwalający na analizy bioinformatyczne z wykorzystaniem oprogramowania SpaceRanger;
 - f) poddane obróbce bioinformatycznej dane, zostaną przekazane Zamawiającemu na dysku lub udostępnione do pobrania w dedykowanej chmurze;
 - g) 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).
 - h) dane zostaną nieodwracalnie usunięte po maksymalnie 6 miesiącach lub na wyraźne życzenie strony zamawiającej.

Zamawiający nie dopuszcza powierzenia podwykonawcom lub pośrednikom któregokolwiek z etapów realizacji usługi. Wykonawca zobowiązany jest wykonać wszystkie czynności wchodzące w skład danego Zadania. Zapłata należności za prawidłowo wykonaną usługę nastąpi w terminie 30 dni od dostarczenia przez Wykonawcę faktury.

III. **Zadanie nr 3** – obejmuje usługę sekwencjonowania przygotowanych i powierzonych przez Zamawiającego bibliotek genomowych otrzymanych po reakcji z wodorosiarczynem (10 sztuk), na poziomie minimalnym 400M odczytów sparowanych na próbkę (2 x 150 bp, co odpowiada pokryciu min. 30x). Czas wykonania: 21 dni roboczych od momentu pozytywnej weryfikacji jakości próbek. Usługa obejmuje realizację nw. czynności i na następujących zasadach:

- a) kontrola jakości powierzonych bibliotek, czystość, integralność i stężenie zostaną zweryfikowane za pomocą urządzeń Agilent BioAnalyzer lub TapeStation oraz Qubit - Zamawiający zostanie poinformowany o wynikach kontroli jakości w osobnym raporcie przed podjęciem decyzji o dalszym procedowaniu próbek;
- b) sekwencjonowanie zostanie przeprowadzone w technologii Illumina NovaSeq X PE150 na poziomie minimalnym 400M odczytów sparowanych na próbkę (2 x 150bp), będącymi odpowiednikiem 120Gb;
- c) wygenerowanie przez Wykonawcę raportu podsumowującego przebieg sekwencjonowania, obejmującego informacje na temat metody i procedury sekwencjonowania, informacje odnośnie samego przebiegu sekwencjonowania oraz opracowanie statystyczne pozwalające na ocenę jakości sekwencjonowania (przynajmniej 80% zsekwencjonowanych par zasad powinno mieć jakość Q30 lub więcej) i pokrycia próbek;
- d) uzyskane dane zostaną przekazane Zamawiającemu na dysku lub udostępnione do pobrania w dedykowanej chmurze;
- e) 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).
- f) dane zostaną nieodwracalnie usunięte po maksymalnie 6 miesiącach lub na wyraźne życzenie strony zamawiającej.
- g) Zamawiający nie dopuszcza powierzenia podwykonawcom lub pośrednikom któregokolwiek z etapów realizacji usługi. Wykonawca zobowiązany jest wykonać wszystkie czynności wchodzące w skład danego Zadania. Zapłata należności za prawidłowo wykonaną usługę nastąpi w terminie 30 dni od dostarczenia przez Wykonawcę faktury.
- h) W ramach usługi, zleceniodawca informowany będzie na bieżąco o postępach i etapach pracy nad zleconymi próbkami poprzez regularną komunikację z dedykowanym managerem projektu. Usługa obejmuje wsparcie techniczne i opiekę techniczną nad użytkownikiem.
- i) Koszt wysyłki bibliotek z miejsca ich przechowywania do Wykonawcy (transport kurierem) pokrywa Wykonawca.