

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 dwa 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.  | <ul style="list-style-type: none"> <li>– 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);</li> <li>– stworzenie biblioteki PCR-Free, z insertem o długości 350 bp, oryginalnym zestawem Illumina TruSeq DNA lub alternatywnym z zachowaniem parametrów jakościowych;</li> <li>– platforma do sekwencjonowania: NovaSeq X;</li> <li>– konfiguracja: 2x150bp;</li> <li>– całkowita ilość próbek 11 próbek;</li> <li>– próbki dostarczone będą w jednej partii;</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 11 próbek              | *należy wskazać jednostkową cenę dla 1 próbki<br>11 próbek x cena jednostkowa = wartość : _____<br>(podać rodzaj waluty PLN, EURO....) |
| 2.  | <p>Strona zamawiająca dostarczy na koszt Wykonawcy wyizolowany gDNA, po czym Wykonawca:</p> <p><b>a. Dokona oceny parametrów jakościowych</b> (czystości, integralności oraz ilości) dostarczonych próbek metodami fluoroscencyjnymi (analiza ilościowa), spektrofotometrycznymi (analiza czystości) oraz zastosuje elektroforezę żelową (w celu dokonania oceny integralności materiału):</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>i. w przypadku próbek niespełniających kryteriów jakościowych, Wykonawca jednokrotnie pokryje koszty transportu próbek zapasowych;</li> <li>ii. Wykonawca zezwala na dostarczenie próbek zapasowych w terminie do 3 miesięcy liczonego od czasu dostarczenia próbek oryginalnych.</li> </ol> <p><b>b. Przygotuje biblioteki</b> do sekwencjonowania kompatybilne z platformą Illuminy:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>i. w zależności od parametrów wejściowych próbek, strona zamawiająca zastrzega sobie prawo do wyboru protokołu przygotowania biblioteki (z krokiem PCR lub bez);</li> <li>ii. biblioteki przygotowane będą przy użyciu oryginalnych, licencjonowanych i zweryfikowanych materiałów Illuminy. Strona zamawiająca dopuszcza użycie nieoryginalnych</li> </ol> | Zgodna z liczbą próbek | w cenie usługi                                                                                                                         |

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