

OPIS PRZEDMIOTU ZAMÓWIENIA

Przedmiotem zamówienia jest wykonanie usługi sukcesywnego sekwencjonowania nowej generacji (NGS) i uzyskanie sekwencji całogenomowych w wyniku sekwencjonowania typu „whole genome sequencing” (WGS) łącznie dla 150 próbek z mapowalnym głębokim pokryciem x50.

Usługa wykonana zostanie z wykorzystaniem materiału:

- szczepów bakterii *Listeria monocytogenes* (10 szczepów) – 1 transza -
- szczepów bakterii *Escherichia coli* (20 szczepów) - 2 transze
- szczepów bakterii *Staphylococcus aureus* (20 szczepów) – 1 transza
- szczepów bakterii *Salmonella* spp. (100 szczepów) - 4 transze

dostarczonego przez Zamawiającego w postaci 150 prób wyizolowanego genomowego DNA.

Wykonawca dokona oceny parametrów jakościowych i ilościowych próbek genomowego DNA (czystości, jakości i stężenia). Realizacja zamówienia będzie się odbywała partiami. Zamawiający planuje wysłanie próbek w czterech transzach. Koszty transportu próbek w pokrywa Wykonawca. Niewymagany jest zwrot niewykorzystanego materiału po zakończeniu sekwencjonowania. Genomowe DNA nie może być wykorzystane przez Wykonawcę w innym celu niż przedmiot niniejszego zamówienia.

Protokół zdawczo - odbiorczy może zostać wysyłany pocztą elektroniczną oraz zostać wysłany do Zamawiającego w formie elektronicznej w tym przypadku skanu po wykonaniu usługi w celu wystawienia faktury VAT.

Do obowiązków Wykonawcy w ramach niniejszego zamówienia należeć będą następujące czynności:

1. Kontrola jakości dostarczonych próbek do sekwencjonowania (Stężenie genomowego DNA zmierzone przed procedurą przygotowania bibliotek).
2. Przygotowanie bibliotek z wykorzystaniem dostarczonego, wyizolowanego genomowego DNA, na potrzeby sekwencjonowania NGS przy pomocy sekwenatora firmy Illumina. Biblioteki zostaną przygotowane wyłącznie przy użyciu oryginalnych, licencjonowanych i zweryfikowanych zestawów Illumina, zgodnie z parametrami zalecanymi do przygotowania bibliotek do sekwencjonowania w technologii Illumina. Zamawiający nie dopuszcza użycia odpowiedników i niezwalidowanych zestawów.
3. Kontrole jakości przygotowanych bibliotek.

4. Sekwencjonowanie na platformie MiSeq z zestawem odczynników umożliwiającym odczyt w trybie sparowanych końców (ang.: paired-end; PE), o długości odczytu 2x300nt z głębokim pokryciem x50.

Odczyty muszą być nazwane i skompresowane w formacie gz jako: XXX_R1.fastq.gz ; XXX_R2.fastq.gz, gdzie XXX oznacza numer szczepu

5. Wygenerowanie 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.

6. Wstępna obróbka informatyczna uzyskanych danych obejmująca przefiltrowanie odczytów. Składanie odczytów *denovo*. Sekwencje kontigów zostaną przefiltrowane w celu usunięcia kontigów o niskim pokryciu. Ponadto Wykonawca przeprowadzi standardową kontrolę jakości danych (jakość i ilość) przed dostarczeniem ich do Zamawiającego.

7. Wyniki sekwencjonowania. Wykonawca dostarczy Zamawiającemu:

- pliki danych z odczytami sekwencji DNA – po dwa odczyty na każdy sekwencjonowany fragment
- Surowe dane będą dostępne w formacie dwóch spakowanych plików fastq o rozszerzeniu „*.fastq.gz” dla każdej próbki. Surowe dane zostaną umieszczone w katalogu „raw”. Odczyty przefiltrowane zostaną skatalogowane jako „trimmed”.

- Wyniki składania *denovo* zostaną umieszczone w katalogu “fasta”.

- Kontigi usunięte zostaną umieszczone w katalogu: “fasta/low_coverage_contigs”. Pliki wynikowe składania (przed filtrowaniem) umieszczone zostaną w katalogu “all_contigs”, natomiast kontigi po filtrowaniu – w katalogu “fasta/filtered_contigs”.

8. Dostarczenie plików wynikowych dla 150 próbek na nośnikach zewnętrznych (pendrive lub dysku przenośnym).

9. Ewentualne wsparcie techniczne w trakcie przygotowywania przez Zamawiającego prób do sekwencjonowania oraz bieżące informowanie Zamawiającego o postępach i etapach pracy.