

**OPIS PRZEDMIOTU ZAMÓWIENIA**

Przedmiotem zamówienia jest usługa sekwencjonowania metodą nowej generacji (NGS) na platformie Illumina, w ramach projektu *Funkcjonalne następstwa utraty chromosomu Y (LOY) w komórkach układu immunologicznego w kontekście chorób nowotworowych – badania ex-vivo oraz in vitro z wykorzystaniem komórek ludzkich* w programie OPUS Narodowego Centrum Nauki, nr umowy: UMO-2023/49/B/NZ2/03680.

I. Szczegółowy zakres świadczenia usługi:

1. Usługa składa się z dwóch integralnych części: oceny jakości dostarczonych bibliotek oraz sekwencjonowania.
2. W celu zachowania ciągłości metodyki oraz porównywalności uzyskanych wyników badań w analizie bioinformatycznej z danymi wynikowymi z poprzednich analiz NGS, sekwencjonowanie przeprowadzone zostanie na platformie Illuminy.

A. ZAKRES PODSTAWOWY:

- 1) Sekwencjonowanie RNA na platformie Illumina NovaSeq X lub platformie równoważnej (platforma równoważna z wykorzystaniem metodologii sekwencjonowania przez syntezę ang. Sequencing by synthesis, SBS), która powinna zapewnić zachowanie ciągłości wyników badań i ich porównywalność w analizie bioinformatycznej z danymi wynikowymi z poprzednich analiz NGS, z której Zamawiający korzystał dotychczas tj.: z platformy: **Illumina NovaSeq X - ścieżka (flowcell) 10B ~350 Gbp w konfiguracji 2x150bp, 6 zleceń (6 ścieżek)**
- 2) Kontrola jakości spulowanych bibliotek – **6 zleceń**

B. ZAKRES OPCJONALNY

- 1) Sekwencjonowanie RNA na platformie Illumina NovaSeq X lub platformie równoważnej (platforma równoważna z wykorzystaniem metodologii sekwencjonowania przez syntezę ang. Sequencing by synthesis, SBS), która powinna zapewnić zachowanie ciągłości wyników badań i ich porównywalność w analizie bioinformatycznej z danymi wynikowymi z poprzednich analiz NGS, z której Zamawiający korzystał dotychczas tj.: z platformy: **Illumina NovaSeq X - ścieżka (flowcell) 10B ~350 Gbp w konfiguracji 2x150bp, 4 zlecenia (4 ścieżki)**.
- 2) Sekwencjonowanie RNA na platformie Illumina NovaSeq X lub platformie równoważnej (platforma równoważna z wykorzystaniem metodologii sekwencjonowania przez syntezę ang. Sequencing by synthesis, SBS), która powinna zapewnić zachowanie ciągłości wyników badań i ich porównywalność w analizie bioinformatycznej z danymi wynikowymi z poprzednich analiz NGS, z której Zamawiający korzystał dotychczas tj.: z platformy: **Illumina NovaSeq X - 1Gbp w konfiguracji 2x150bp – 700 Gbp (podzielone na pojedyncze zlecenia)**.
- 3) Sekwencjonowanie RNA na platformie Illumina NovaSeq 6000 lub platformie równoważnej (platforma równoważna z wykorzystaniem metodologii sekwencjonowania przez syntezę ang. Sequencing by synthesis, SBS), która powinna zapewnić zachowanie ciągłości wyników badań i ich porównywalność w analizie bioinformatycznej z danymi wynikowymi z poprzednich analiz NGS, z której Zamawiający korzystał dotychczas tj.: z platformy: **Illumina NovaSeq 6000 - 1Gbp w konfiguracji 2x150bp – 100 Gbp (podzielone na pojedyncze zlecenia)**.
- 4) Kontrola jakości spulowanych bibliotek – **maksymalnie 10 zleceń**
- 5) Wysyłka prób bez suchego lodu (dla jednorazowego zlecenia poniżej kwoty 6 500,00 zł – **4 zlecenia**)
- 6) wysyłka danych na dysku zewnętrznym do siedziby Zamawiającego – **2 zlecenia**



3. Zamawiający wymaga, aby Wykonawca używał oryginalnych i zweryfikowanych kitów oraz odczynników do sekwencjonowania. Wykonawca zastosuje tylko oryginalne i zwalidowane kity. Nie dopuszcza się stosowania żadnych produktów OEM lub "odpowiedników".
4. Zamawiający dostarczy samodzielnie skonstruowane biblioteki po spulowaniu – jednorazowa pula w celu wykonania usługi sekwencjonowania może mieć od 5 do 96 prób (w zależności którego zakresu dotyczy sekwencjonowane – podstawa; opcja) z unikalnymi podwójnymi indeksami (Unique Dual Index Kit). Wybór kitu do przygotowania bibliotek będzie zależny od ilości RNA otrzymanego w trakcie realizacji projektu. Zamawiający zastrzega możliwość przygotowania biblioteki wg protokołów firmy Takara.
5. Próbkę dostarczane będą sukcesywnie w partiach, a ich ilość prób będzie zależała od ilości eksperymentów i bieżących potrzeb Zamawiającego.
6. Zamawiający wymaga sprawdzenia wymaganych parametrów ilościowych i jakościowych biblioteki przy użyciu metod fluorometrycznych i qPCR. W przypadku negatywnej weryfikacji jakości próbki/próbek Wykonawca zezwala na jednokrotne dostarczenie dodatkowego materiału na koszt Zamawiającego.
7. Wynikiem eksperymentu towarzyszyć będzie raport podsumowujący zawierający m.in.:
 - Informacje na temat metody i procedury eksperymentalnej,
 - Zbiorcze podsumowanie eksperymentu (informacje dotyczące próbek, samego przebiegu oraz opracowanie statystyczne pozwalające na ocenę jakości sekwencjonowania i pokrycia próbek).
8. Po zakończeniu eksperymentu, dane surowe w formacie FASTQ będą udostępnione Zamawiającemu poprzez dedykowany serwer FTP lub poprzez jakiegokolwiek inny protokół umożliwiający bezpieczny tryb dostępu.
9. Wykonawca gwarantuje, że wszystkie wygenerowane dane będą nieodwracalnie usunięte po maksymalnie 6 miesiącach. Dane nie będą przechowywane, wykorzystywane na użytek Wykonawcy oraz nie będą udostępnione osobom trzecim. Wykonawca dostarczy protokół zniszczenia danych.
10. W ramach usługi Zamawiający będzie informowany na bieżąco o postępach i etapach pracy nad zleconymi próbkami poprzez regularną komunikację z Wykonawcą.