

PLIEGO DE PRESCRIPCIONES TÉCNICAS PARA LA CONTRATACIÓN MEDIANTE PROCEDIMIENTO ABIERTO SUJETO A REGULACIÓN ARMONIZADA, DEL SERVICIO DE SECUENCIACIÓN DE DATOS

Expediente CONSER02020008OP

Introducción

El Barcelona SuperComputing Center – Centro Nacional de Supercomputación requiere contratar los servicios recurrentes relacionados con las nuevas técnicas secuenciación New Generation Sequencing (NGS en adelante).

Descripción del servicio

Las técnicas NGS son servicios de secuenciación con finalidad biomédica que, mediante la entrega de una muestra biológica de ácidos nucleicos se necesita obtener las secuencias de dichas muestras en forma de informe con los resultados de dichos análisis. Es decir, lo que se pretende es contratar los servicios de secuenciación para obtener un informe elaborado con resultados a partir de una muestra de ácidos nucleicos. La determinación de las secuencias son varias dependiendo del tipo de muestra y el tipo de secuencia que se quiere obtener (ADN, ARN, secuencias largas, cortas, etc) y se hacen por metodologías de NGS.

Con el transcurso de los años, y si bien son varias las aproximaciones técnicas que permiten la caracterización génica de muestras biológicas, el desarrollo de las nuevas técnicas de secuenciación NGS, otorgan, a los proyectos con finalidad biomédica, un salto cualitativo de gran impacto. La secuenciación masiva, capaz de detectar cambios mínimos en un genoma entero, acompañado de la progresión y la mejora de la química y los reactivos implicados en dichos procesos, hacen que los servicios de NGS y, en particular, los protocolos de “Single Cell”, se hayan vuelto imprescindibles para la investigación biomédica.

La finalidad del presente pliego es describir la contratación de los servicios recurrentes relacionados con las técnicas de NGS.

1. Características técnicas generales:

Las empresas licitadoras deberán poder cumplir, en función de sus capacidades tecnológicas, la realización de todos los servicios detallados para la ejecución del presente contrato en base a las siguientes características técnicas:

Se requiere que el/los proveedores(es)/ plataforma(s)/ institución(es) adjudicatario(s) de este procedimiento pueda(n) ofrecer la totalidad o parte de los servicios que se listan a continuación (se describen en el punto 3.2.).

Además, dicho(s) proveedor(es) debe(n) garantizar la calidad de todos los servicios prestados, por lo que se exige que disponga de un sistema de gestión de las normas de calidad. Con el fin de garantizar la calidad de los servicios prestados (previamente mencionados), el/los licitadores(es) deberá(n) aplicar los principios de

buenas prácticas, proveer de experiencia demostrada en el diseño y ejecución de los servicios, mantener un sistema de gestión de calidad en cuanto a la secuenciación masiva y a la interpretación de resultados, cumplir con los estándares de la **ISO9001**, así como con todos los requerimientos éticos y legales que se tercier según el proyecto.

2. Características técnicas específicas:

a) Preparación de librerías

Los licitadores deberán determinar la cantidad y calidad del material genético que preparen (librerías) y que será posteriormente cargado en los equipos de secuenciación (o secuenciadores). Se requiere, por lo tanto, una validación de la calidad de las muestras por parte de los licitadores.

Así, en cuanto a las librerías de ADN o ARN siempre se requiere de un control de calidad. Dicho protocolo puede llevarse a cabo mediante un Bioanalyzer, sistema que proporciona tamaño, cuantificación y control de calidad de ambos, ADN y ARN. Además de este tipo de análisis, las librerías que vayan a ser posteriormente sometidas a protocolos de secuenciación, también deben ser sometidas a una validación de calidad y a un protocolo de cuantificación mediante la técnica de qPCR, con el fin de determinar cantidades exactas de ADN/ARN antes de cargar el/los secuenciador/es. Por todo ello, se listan a continuación las técnicas o servicios que deben ofrecer los licitadores y que deben ser incluidos en este proceso:

- Control de Calidad de ADN (material estándar) (Bioanalyzer).
- Control de Calidad de ADN (material altamente sensible) (Bioanalyzer).
- Control de Calidad de ADN (Bioanalyzer).
- Control de Calidad de ARN.
- Control de Calidad de ARN (Bioanalyzer).
- Control de Calidad de Librerías (Bioanalyzer).
- Cuantificación de Librerías (q-PCR).
- Control de Calidad para muestras de baja integridad.
- Librería de ADN (con PCR), <100ng.
- Librería de ADN (sin PCR), >100ng.
- Librería de ARN mensajero, <100ng.
- Librería de ARN mensajero de cadena direccional, <100ng.
- Librería de ARN total de cadena direccional, >100ng.
- Librería de "small" ARN (*Small RNA Library Preparation TruSeq*) <500 ng para muestras *low input*.
- *ChIP-nexus*. Para este protocolo, y dado que la proteína de interés debe permanecer unida tanto al ADN como al anticuerpo correspondiente, la preparación también debe ser procesada de forma inmediata, sin congelar, para evitar la destrucción de dichos complejos macromoleculares.
- Librería de ADN (a partir de un bajo número de copias, <10ng).
- Librería de ARN (a partir de un bajo número de copias, <10ng).

- Librería de ARN total de cadena direccional (a partir de un bajo número de copias, <10ng y de baja calidad).
- Preparación de muestra (tiempo).
- Preparación de muestra (unidad).

Forman parte de la preparación de librerías los artículos que corresponden a todas las técnicas complementarias que se detallan a continuación:

- Adición de adaptadores de secuenciación para PCR.
- Preparación de muestra con tecnología GBS (96 muestras).
- Preparación de muestra con tecnología TEST GBS (grupo de librerías).
- Conversión de bisulfito.
- Conversión de bisulfito y oxbisulfito.

Además, es necesario que los licitadores que ofrezcan los servicios solicitados en este apartado entreguen los resultados en un plazo máximo de 6 semanas.

b) Preparación de otros tipos de librerías

En general, si bien dichos servicios serán solicitados con menor frecuencia por parte del Órgano de Contratación, se requiere que sean igualmente ofrecidos por los licitadores. Así pues, es necesario que ofrezcan las tecnologías de Nimblegen, Nextera y Nanopore para la preparación de las librerías que se listan a continuación. Asimismo, y como paso previo a su preparación, será necesario que se valide su calidad:

- Control de Calidad de ADN (material estándar) (Bioanalyzer).
- Control de Calidad de ADN (material altamente sensible) (Bioanalyzer).
- Control de Calidad de ADN (Bioanalyzer).
- Control de Calidad de ARN.
- Control de Calidad de ARN (Bioanalyzer).
- Control de Calidad de Librerías (Bioanalyzer).
- Cuantificación de Librerías (q-PCR).
- Control de Calidad para muestras de baja integridad.
- Librería de ADN (HIC).
- Librería de ADN para captura de Exoma (CSP, Nimblegen).
- Librería de ADN para captura de Exoma (Nimblegen).
- Librería del tipo "Nextera Mate Pair".
- Librería del tipo "Nextera Mate Pair" (con PCR adicional).
- Librería del tipo "Nextera Mate Pair" (sin gel).
- Librería de ADN para captura de Exoma (CSP Nimblegen, para un grupo de muestras).
- Librería de ADN para captura de Exoma (CSP Nimblegen, para placa de 96 pocillos).
- Librería directa de ADN cíclico (cDNA) con tecnología Nanopore.
- Librería directa de ARN con tecnología Nanopore.
- Librería de ADN con tecnología 1D con tecnología Nanopore.

- Librería de ADN con tecnología 1D*2 con tecnología Nanopore.
- Librería de ADN a partir de un bajo número de copias con tecnología Nanopore.
- Librería de ADN cíclico con tecnología Nanopore (PCR).
- Librería de Microbioma.
- Preparación de muestra (tiempo).
- Preparación de muestra (unidad).

Forman parte de este apartado los artículos que corresponden a todas las técnicas complementarias relacionadas con la preparación de librerías:

- Adición de adaptadores de secuenciación para PCR.
- Preparación de muestra con tecnología GBS (96 muestras).
- Preparación de muestra con tecnología TEST GBS (grupo de librerías).
- Conversión de bisulfito.
- Conversión de bisulfito y oxbisulfito.

Además, es necesario que los licitadores ofrezcan los servicios solicitados en este apartado entreguen los resultados en un plazo máximo de 6 semanas.

c) Análisis y librerías de *single cell*

Se trata de una herramienta, igualmente innovadora y potente, que permite el análisis del genoma al nivel de una sola célula, lo cual resulta muy poderoso para descubrir mecanismos moleculares que no pueden ser caracterizados cuando se estudia una población masiva de células.

Es por ello que los servicios de análisis de “single cell” que deben incluirse en el apartado C) de este procedimiento son los siguientes:

- Control de calidad de ADN cíclico (C1 single-cell).
- Síntesis de ADN cíclico (C1 single-cell, 96 muestras).
- Aislamiento de ARN (C1 single-cell, 96 muestras).
- Preparación de librería de ARN (C1 single-cell).
- Síntesis de ADN cíclico mediante tecnología MARS-Seq.
- Preparación de librerías de ARN (secuenciación MARS en placas de 96 pocillos).
- Preparación de librerías de RNA mensajero mediante tecnología SMART-Seq (placas de 96 pocillos).
- Librería de ARN de célula única (tecnología MARS-Seq). Se requiere que se realice una preparación previa de las placas de lisis (tipo 384 pocillos) para la obtención de las células aisladas antes de proceder con la generación de las librerías mediante la tecnología MARS-Seq.

Además, es necesario que los licitadores ofrezcan los servicios solicitados en este apartado entreguen los resultados en un plazo máximo de 12 semanas.

d) Tecnologías más novedosas

Dada la constante evolución que están experimentando este tipo de análisis a nivel experimental, es necesario que los licitadores ofrezcan, también, la tecnología más novedosa en cuanto a preparación de librerías, la cual deberá incluir los controles de calidad propios de la técnica en cuestión:

- Preparación de Librería ATAC (“single cell, 10x Genomics”). Para este protocolo, la preparación de librería debe ser procesada de forma inmediata a partir de un pellet inicial de núcleos celulares, sin congelar, para evitar la destrucción de la muestra.
- Preparación de Librería de ARN mensajero 3' (“single cell, 10x Genomics”).

Además, es necesario que los licitadores ofrezcan los servicios solicitados en este apartado entreguen los resultados en un plazo máximo de 12 semanas.

e) Secuenciación masiva mediante tecnología Illumina

Se requiere por parte de los licitadores que utilicen la tecnología Illumina para los protocolos de secuenciación masiva.

En cuanto a los reactivos químicos, los servicios de secuenciación deberán poder prestarse con los reactivos químicos de las primeras versiones (técnicamente, terminología v2) o con los actuales, la última versión de reactivos (técnicamente, terminología v4), según necesidades técnicas de la solicitud.

Así, en relación a la secuenciación masiva, deberían incluirse en el presente apartado los siguientes conceptos:

- Secuenciación de fragmentos pareados de 2x25 pares de bases, mediante sistema HiSeq en modo rápido de lectura (v2).
- Secuenciación de fragmentos no pareados de 1x50 pares de bases, mediante sistema HiSeq en modo rápido de lectura (v2).
- Secuenciación de fragmentos pareados de 2x50 pares de bases, mediante sistema HiSeq en modo rápido de lectura (v2).
- Secuenciación de fragmentos pareados de 2x100 pares de bases, mediante sistema HiSeq en modo rápido de lectura (v2).
- Secuenciación de fragmentos pareados de 2x150 pares de bases, mediante sistema HiSeq en modo rápido de lectura (v2).
- Secuenciación pareada de 2x250 pares de bases, mediante sistema HiSeq en modo rápido de lectura (v2).
- Secuenciación de fragmentos pareados de 2x50 pares de bases, mediante sistema HiSeq en modo de alto rendimiento de lectura (v4).
- Secuenciación de fragmentos pareados de 2x75 pares de bases, mediante sistema HiSeq en modo de alto rendimiento de lectura (v4).

- Secuenciación de fragmentos pareados de 2x100 pares de bases, mediante sistema HiSeq en modo de alto rendimiento de lectura lectura (v4).
- Secuenciación de fragmentos pareados de 2x125 pares de bases, mediante sistema HiSeq en modo de alto rendimiento de lectura lectura (v4).
- Secuenciación de fragmentos no pareados 1x50 pares de bases, mediante sistema HiSeq en modo de alto rendimiento de lectura lectura (v4).
- Secuenciación de fragmentos no pareados 1x100 pares de bases, mediante sistema HiSeq en modo de alto rendimiento de lectura lectura (v4).
- Secuenciación de fragmentos pareados de 2x75 pares de bases, mediante sistema HiSeq3000/4000.
- Secuenciación de fragmentos pareados de 2x100 pares de bases, mediante sistema HiSeq3000/4000.

Además, es necesario que los licitadores ofrezcan los servicios solicitados en este apartado entreguen los resultados en un plazo máximo de 8 semanas.

f) Secuenciación masiva mediante tecnología Nova Seq

Se requiere, también, de servicios de secuenciación que puedan realizarse con equipos más rápidos, robustos y que ofrecen resultados de igual fiabilidad reduciendo tiempos de procesamiento. Esto es:

- Secuenciación a gran escala (2x100, NovaSeq 6000 S4).
- Secuenciación (2x100, NovaSeq 6000 S1).
- Secuenciación (2x100, NovaSeq 6000 S2).
- Secuenciación (2x150, NovaSeq 6000 S1).
- Secuenciación (2x150, NovaSeq 6000 S2).
- Secuenciación (2x150, NovaSeq 6000 S4).
- Secuenciación (2x50, NovaSeq 6000 S1).
- Secuenciación (2x50, NovaSeq 6000 S2).

Además, es necesario que los licitadores ofrezcan los servicios solicitados en este apartado entreguen los resultados en un plazo máximo de 8 semanas.

g) Otros tipos de secuenciación. Whole Genome (mouse and human)

Cuando este Consorcio lo solicite, según el proyecto, se requerirá de la secuenciación del genoma completo (*whole genome*), de humano o ratón, mediante la tecnología HS4000. El servicio presentado por el licitador deberá ofrecer un control de calidad, preparación de librerías, así como el kit/método a usar en función de la cantidad de material de partida. Por otro lado, la secuenciación de genoma completo se solicitará también mediante la tecnología NovaSeq. Estos servicios incluyen:

- Librería Truseq PCR free 350 pares de bases + Novaseq6000 (2x150bp) 30X de cobertura.
- Librería Truseq PCR free 350 pares de bases + Novaseq6000 (2x150bp) 60X de cobertura.
- Secuenciación de Genoma completo mediante el sistema HS4000. Se requieren lecturas pareadas, de 2x 150 pares de bases con >50x (cobertura).
- Envío de datos mediante HDD de 2Tera.

Además, es necesario que los licitadores ofrezcan los servicios solicitados en este apartado entreguen los resultados en un plazo máximo de 12 semanas.

h) Otros tipos de secuenciación. Secuenciación dirigida

Los servicios que se incluyen en este apartado son los que se relacionan a continuación:

- Captura customizada mediante tecnología Agilent XT/XT2 (CSP, proporcionando cebos y reactivos).
- Captura customizada mediante tecnología Agilent XT/XT2 (CSP, proporcionando sólo cebos).
- Captura customizada mediante tecnología Nimblegen proporcionando cebos y reactivos.
- Captura customizada mediante tecnología Nimblegen (CSP); proporcionando cebos y reactivos.
- Captura de Exoma clínico humano mediante tecnología Agilent (CSP).
- Captura de Exoma clínico humano mediante tecnología Nimblegen (CSP).
- Captura de Exoma clínico humano y ADN mitocondrial mediante tecnología Nimblegen (CSP).
- Captura de Exoma humano (CSP tecnología v5 Agilent).
- Captura de Exoma humano (CSP tecnología v6 Agilent).
- Captura de Exoma humano (Nimblegen).
- Captura de Exoma humano (CSP, Nimblegen).
- Captura de Exoma de ratón mediante tecnología Nimblegen.
- Captura de Exoma de ratón mediante tecnología CSP Nimblegen.
- Preparación de librería Truseq (Custom Amplicon).

Además, es necesario que los licitadores ofrezcan los servicios solicitados en este apartado entreguen los resultados en un plazo máximo de 8 semanas.

i) Otros tipos de secuenciación

Los servicios que se incluyen en este apartado son los que se relacionan a continuación:

- Secuenciación de fragmentos pareados, 50 ciclos, mediante sistema MiSeq (v2).
- Secuenciación de fragmentos pareados, 300 ciclos, mediante sistema MiSeq (v2).
- Secuenciación de fragmentos pareados, 300 ciclos, mediante sistema Micro Kit MiSeq (v2).
- Secuenciación de fragmentos pareados, 500 ciclos, mediante sistema MiSeq (v2).
- Secuenciación de fragmentos pareados, 150 ciclos, mediante sistema MiSeq (v3).
- Secuenciación de fragmentos pareados, 600 ciclos, mediante sistema MiSeq (v3).
- Secuenciación de tipo Nanopore.

Además, es necesario que los licitadores ofrezcan los servicios solicitados en este apartado entreguen los resultados en un plazo máximo de 8 semanas.

j) Control de calidad y análisis de datos

Se requiere, por parte de los licitadores y, en relación a los resultados de los servicios prestados, que se confirme su calidad final. Así pues, los datos generados, fruto de la prestación de los servicios solicitados por parte del BSC, deberán ir, en caso que así se solicite, acompañados de su correspondiente control de calidad mediante análisis primario.

Además, es necesario que los licitadores acompañen, siempre que así lo solicite este Consorcio:

- **Asesoramiento específico y personalizado.** Los licitadores deben ofrecer consultoría sin coste añadido. A fin de potenciar el diálogo y seguimiento durante la realización de cualquiera de los servicios solicitados, se requiere atención telefónica (o, en su defecto, atención personal) inmediata, en horario laborable local. Esto es, de 9 horas a 18 horas de lunes a viernes no festivos.
- **Formación personalizada y presencial.** Los licitadores que se presenten a esta licitación para la prestación del servicio detallado deben ofrecer sin coste añadido la posibilidad de discutir el análisis de los resultados obtenidos.

En cuanto a los artículos que deberían estar incluidos en este apartado, se encuentran los siguientes:

- Datos QC.