



Hospital Universitario La Paz
Fundación para la Investigación Biomédica

 **Comunidad de Madrid**



Unión Europea
Fondo Europeo de
Desarrollo Regional

"Una manera de hacer Europa"

PLIEGO DE PRESCRIPCIONES TÉCNICAS QUE HA DE REGIR EL CONTRATO DE SUMINISTRO DE KITS ESPECÍFICOS PARA EL LABORATORIO DE TERAPIAS EXPERIMENTALES Y NUEVOS BIOMARCADORES EN CÁNCER, A ADJUDICAR POR PROCEDIMIENTO ABIERTO SIMPLIFICADO MEDIANTE CRITERIO ÚNICO, PAS 08-2022.

ÍNDICE

1. CARACTERÍSTICAS GENERALES.....	2
1.1. Objeto del contrato.....	2
1.2. Legislación.....	2
1.3. Plazo de entrega	2
2. ESPECIFICACIONES TÉCNICAS DEL SUMINISTRO/SERVICIO.....	3
2.1. Partes y componentes.....	2
2.2. Características técnicas.....	6



Hospital Universitario La Paz
Fundación para la Investigación Biomédica

Comunidad de Madrid



"Una manera de hacer Europa"

PLIEGO DE PRESCRIPCIONES TÉCNICAS QUE HA DE REGIR EL CONTRATO DE SUMINISTRO DE KITS ESPECÍFICOS PARA EL LABORATORIO DE TERAPIAS EXPERIMENTALES Y NUEVOS BIOMARCADORES EN CÁNCER.

1.- CARACTERÍSTICAS GENERALES

1.1-OBJETO DEL CONTRATO.

El objeto del presente pliego es llevar a cabo la identificación, estudio y validación funcional de potenciales nuevos biomarcadores en cáncer con sondas Taqman, para lo cual es necesario el suministro de kits que permitan la extracción y purificación de distintos ácidos nucleicos de diversos orígenes, para el desarrollo de la línea de investigación del proyecto PI21-00145 por el Grupo de Investigación de Epigenética del IdiPAZ.

1.2- LEGISLACIÓN.

Los productos presentados a este procedimiento, deberán cumplir la legislación vigente que sea de aplicación.

El contratista deberá respetar el carácter confidencial de aquella información a la que tenga acceso con ocasión de la ejecución del contrato a la que se le hubiese dado el referido carácter en los pliegos o en el contrato, o que por su propia naturaleza deba ser tratada como tal, quedando el contratista sometido a la normativa nacional y europea en materia de protección de datos, siendo ésta una obligación contractual esencial (211.1.f LCSP).

1.3.- PLAZOS DE ENTREGA.

El suministro objeto del contrato se realizará en un plazo máximo de 6 meses.

2. ESPECIFICACIONES TÉCNICAS

LOTE 1: kit que permita la purificación de ARN total, que incluya ARNs pequeños (de 18 nucleótidos en adelante) de secciones de tejido fijadas en formalina e incluidas en parafina (FFPE). **Especificidades:** Purificación de ARN total, que incluya ARNs pequeños de secciones en FFPE, de hasta 4 secciones, cada una con un grosor de hasta 10 µm y un área de superficie de hasta 250 mm². El kit debe proporcionar la recuperación de fragmentos de ARN utilizables, **incluidos miRNA y otros ARN pequeños**, para aplicaciones como la amplificación cuantitativa con sondas taqman en la real-time RT-PCR, así como microArrays y NGS a partir de un volumen de eluido de 14–30 µl. **Se necesita que las aplicaciones y componentes del kit estén rigurosamente especificados**

LOTE 2: kit para la extracción de ARN total altamente puro (incluida la fracción de miRNA y ARN pequeños) directamente extraído de la muestra sin previo aislamiento de exosomas u otras vesículas extracelulares (EV). **Especificidades:** El origen del ARN que se extraiga ha de ser exclusivamente de exosomas y otras vesículas extracelulares (EV) de la mayoría de los biofluidos, incluida la orina, el suero, el plasma, el LCR y el sobrenadante de cultivo celular. El aislamiento de ARN ha de ser exclusivamente de exosomas, excluyendo ARN de complejos proteicos no vesiculares. El kit ha de utilizar columnas de centrifugación de afinidad de membrana para capturar eficientemente exosomas y otros EV de la mayoría de los biofluidos, y luego, usar columnas de rotación para aislar el ARN de los EV. El formato de columna ha de ser midi, permitiendo el procesamiento eficiente de volúmenes pequeños de muestra (hasta 1 ml de suero / plasma o 4 ml de orina). La purificación ha de permitir realizar aplicaciones posteriores como la transcriptómica, perfiles de mRNA y miRNA y secuenciación de RNA. **Se necesita que las aplicaciones y componentes del kit estén rigurosamente especificados**

LOTE 3: kit optimizado para el aislamiento exclusivo de exosomas y VEs del secretoma/sobrenadante de líneas celulares, muestras de orina y CSF (fluido cerebroespinal). **Especificidades:** El aislamiento ha de ser exclusivo de exosomas en las muestras de origen definidas, con el uso de un tampón de precipitación que facilita la precipitación de partículas menores a 100 nm a baja velocidad de centrifugación. **Se necesita que las aplicaciones y componentes del kit estén rigurosamente especificados**

LOTE 4: kit que permita la purificación de ARN total de muestras frescas no parafinadas. **Especificidades:** Este kit ha de permitir incluir ARN de aproximadamente 18 nucleótidos en adelante, a partir de todo tipo de tejidos y células animales, incluidos los tejidos difíciles de lisar, realizando la lisis con QIAzol, inhibiendo las ARNasas y eliminando el ADN celular y las proteínas del lisado mediante extracción orgánica. Igualmente, este

ARN aislado, ha de permitir realizar Northern Blot, PCR, qPCR, real-time RT-PCR con sondas taqman y microarrays y NGS como posibles análisis posteriores. **Se necesita que las aplicaciones y componentes del kit estén rigurosamente especificados y que cada kit permita analizar 50 muestras como control de reproducibilidad de resultados.**

LOTE 5: kit optimizado para el aislamiento específico de exosomas y VE de muestras de suero plasma. **Especificidades:** El aislamiento ha de ser exclusivo de exosomas y Ves de suero y/o plasma. Con tampón de precipitación que facilita la precipitación de partículas menores a 100 nm a baja velocidad de centrifugación. **Se necesita que las aplicaciones y componentes del kit estén rigurosamente especificados**

LOTE 6: kit diseñado para purificar el **ADN** (genómico y mitocondrial) de secciones de **tejido fijadas** con formalina e incluidas en **parafina (FFPE)**. **Especificidades:** El kit ha de estar diseñado para purificar el **ADN** en FFPE de hasta 8 secciones, cada una con un grosor de hasta 10 µm y un área de superficie de hasta 250 mm², empleando columnas de centrifugación para la purificación de ADN de alta calidad en pequeños volúmenes (20-100 µl), y con **Real-time PCR**, **STR** análisis, **LMD-PCR** como **posibles aplicaciones posteriores**. **Necesidad imperativa es que el kit especifique los componentes que lleva.**

LOTE 7: kit diseñado para purificar ARN total de secciones de tejido fijadas con formalina e incrustadas en parafina (Secciones de 1x5 µm a 4x10 µm), y que incluya DNasa para la eliminación optimizada de la contaminación del ADN genómico. **Especificidades:** Las columnas de rotación deben permitir la purificación de ARN total (intacto hasta 70 nucleótidos de longitud) con volúmenes de elución de 14-30 µl, y realizar PCR, qPCR, real-time RT-PCR y microarray como posibles aplicaciones posteriores. **Necesidad imperativa es que el kit especifique los componentes que lleva.** La característica de este kit es diferencial respecto a la del LOTE 1 debido a que en dicho lote se necesita mantener el aislamiento de RNA de cadena corta (small ARNs), mientras que en el lote 7 se necesita el RNA total.

LOTE 8: kit para la extracción de fragmentos de DNA (desde 70 bp – 4 kb) de geles, eliminando nucleótidos, enzimas, sales, agarosa, bromuro de etidio y otras impurezas de las muestras de ADN. **Especificidades:** dando como resultado ADN altamente concentrado adecuado para una variedad de aplicaciones posteriores, incluyendo secuenciación, análisis de microarrays, ligadura y transformación, digestión de restricción, etiquetado, microinyección, PCR y transcripción in vitro: **Es imprescindible que el kit de extracción rápida sea compatible con técnicas posteriores de alto rendimiento y que especifique los componentes que lleva. Fundamental que el volumen final de elución sea de 10 microlitros.**

LOTE 9: Kit para la amplificación simultánea de múltiples dianas mediante Real Time PCR. **Especificidades:** El kit debe contener la tecnología MP, la cual permite la

amplificación de múltiples fragmentos de PCR de forma simultánea sin interferir en la eficiencia de las amplificaciones de cada una de las dianas, mediante Real Time PCR la cual permite la amplificación de múltiples fragmentos de PCR de forma simultánea que lleven sondas Taqman marcadas con diferentes fluorocromos. El kit debe asegurar una sensibilidad de 10 copias en la detección de cualquiera de las múltiples dianas. El kit debe contener ROX como referencia interna.

LOTE 10: Kit para la extracción de ADN, ARN, miARN, ADN viral y ARN viral libre circulante a partir de plasma o suero. **Especificidades:** El kit debe permitir la extracción específica de ácidos nucleicos circulantes libre en sangre, sin estar contenidos en células ni en vesículas extracelulares y emplear columnas de sílica para la extracción. La duración de la extracción debe ser inferior a 2 horas para 24 muestras. El volumen de partida debe estar entre 1-5 ml. El volumen de elución será de 20-150 µl. El material extraído mediante este kit, debe ser apto para las aplicaciones posteriores de PCR y Real Time PCR.

LOTE 11: TaqMan™ Advanced miRNA Assay. Sonda específica que permite la cuantificación de miRNA a través de qPCR. **Especificidades:** Estos ensayos han de ser compatibles con una retrotranscripción universal para todos los miRNAs contenidos en la muestra; Tener una Sensibilidad límite de detección de 60 copias; una especificidad suficiente para distinguir diferentes miRNA homólogos; que parta de cantidades mínimas de 1pg de RNA total o 2ul de plasma; y que sea compatible con distintos tipos de fluidos; como son suero humano, plasma y tejidos. Cada ensayo que se solicite ha de constar de 2 oligos/primers y una sonda específica para el miRNA determinado y que la mezcla permita la amplificación de 250 reacciones.

LOTE 12: TaqMan™ Advanced miRNA cDNA Synthesis Kit. RT universal para generar cDNA para la posterior detección y cuantificación de miARN maduros en muestras biológicas. **Especificidades:** El kit de síntesis de cDNA ha de utilizar colas poli-A 3' y ligadura 5' de una secuencia adaptadora para extender específicamente miRNAs maduros presentes en la muestra en cada extremo antes de la transcripción inversa. Los cebadores RT universales han de reconocer las secuencias universales presentes en los extremos extendidos 5' y 3' de los miARN maduros. Todos los miARN maduros en la muestra se han de transcribir inversamente a cDNA. Requerirá solo 2 µL de entrada de muestra de plasma / suero y generará suficiente ADNc como para 600 reacciones de qPCR (20 µL) o 1200 reacciones de qPCR (10 µL). Tiene que ser compatible con distintos tipos de fluidos; como son suero humano, plasma y tejidos.

LOTE 13: Mastermix para cuantificación de miRNAs/expresión génica mediante qPCR con sondas Taqman. **Especificidades:** Se ha de suministrar concentrada 2X. Alto rendimiento y sensibilidad. Optimizada para hacer multiplexado. Estable a tª ambiente durante 72h mínimo. Tiempo de procesamiento ha de ser reducido, menos de 40 minutos y de volumen de reactivo por lo menos 5mL por unidad. Tiene que ser compatible con



Hospital Universitario La Paz
Fundación para la Investigación Biomédica

Comunidad de Madrid



Unión Europea
Fondo Europeo de
Desarrollo Regional

"Una manera de hacer Europa"

distintos tipos de fluidos; como son suero humano, plasma y tejidos. Específicamente dicha mastermix tiene que estar validada para amplificar miRNAs con sondas taqman que procedan de un proceso de retrotranscripción global no dirigida a candidato único.

LOTE 14: Mastermix universal validada para trabajar con ensayos Taqman en la cuantificación de expresión génica mediante tecnología qPCR. **Especificidades:** Esta mezcla ha de incluir UNG para evitar contaminaciones de pocillo a pocillo. Incluirá referencia interna pasiva ROX y Proporcionará alto rendimiento, fiabilidad específicamente con secuencias ricas en GC y de volumen de reactivo de al menos 5mL por unidad. Tiene que ser compatible con distintos tipos de fluidos; como son suero humano, plasma y tejidos.

2.1. PARTES Y COMPONENTES:

	Unidades
LOTE 1	2
LOTE 2	4
LOTE 3	3
LOTE 4	4
LOTE 5	4
LOTE 6	6
LOTE 7	2
LOTE 8	2
LOTE 9	10
LOTE 10	2
LOTE 11	15
LOTE 12	8
LOTE 13	8
LOTE 14	2

Madrid, a 28 de marzo de 2022



Hospital Universitario La Paz
Fundación para la Investigación Biomédica

 **Comunidad de Madrid**



Unión Europea

Fondo Europeo de
Desarrollo Regional

"Una manera de hacer Europa"

POR EL ÓRGANO DE CONTRATACIÓN,

D. Juan José Ríos Blanco

Presidente de la Comisión Delegada de la Fundación

CONFORME:

EL ADJUDICATARIO

FECHA Y FIRMA