



Hospital Universitario La Paz
Fundación para la Investigación Biomédica

 **Comunidad de Madrid**



PLIEGO DE PRESCRIPCIONES TÉCNICAS QUE HA DE REGIR EN EL CONTRATO DE “SERVICIO DE SECUENCIACIÓN MASIVA DEL GENOMA COMPLETO HUMANO (WGS) (PROYECTOS FIS 21/01593 Y FIS 20/01053), PARA LA FUNDACIÓN PARA LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO LA PAZ”, A ADJUDICAR POR PROCEDIMIENTO ABIERTO MEDIANTE CRITERIO ÚNICO. EXPEDIENTE N°: PA 03-2022.

ÍNDICE

1. CARACTERÍSTICAS GENERALES

1.1. Objeto del contrato.....Pág. 3

2.ESPECIFICACIONES TÉCNICAS DEL SERVICIO.....Pág. 3

2.1. Garantías.....Pág. 3

2.2. Alcance del proyecto: productos, requisitos y características.....Pág. 4

2.3. Número de muestras.....Pág. 6

PLIEGO DE PRESCRIPCIONES TÉCNICAS QUE HA DE REGIR EN EL CONTRATO DE “SERVICIO DE SECUENCIACIÓN MASIVA DEL GENOMA COMPLETO HUMANO (WGS) (PROYECTOS FIS 21/01593 Y FIS 20/01053), PARA LA FUNDACIÓN PARA LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO LA PAZ”, A ADJUDICAR POR PROCEDIMIENTO ABIERTO MEDIANTE CRITERIO ÚNICO. EXPEDIENTE N°: PA 03-2022.

1. CARACTERÍSTICAS GENERALES

1.1 OBJETO DEL CONTRATO

El presente contrato tiene por objeto el servicio de secuenciación del genoma completo de las muestras detalladas, para el análisis y cumplimiento de los objetivos estipulados en los proyectos FIS 21/01593 Y FIS 20/01053.

2. ESPECIFICACIONES TÉCNICAS DEL SERVICIO

Se requiere el servicio de Secuenciación del genoma completo humano (WGS) con las siguientes necesidades y especificaciones técnicas para el número de muestras que se detalla en este pliego:

- Compromiso de alcanzar mayor cobertura y/o calidad en la secuenciación para WGS.
- Compromiso de alcanzar mayor número de lecturas en la secuenciación para WGS.
- Compromiso de analizar las muestras con mayor número de lecturas por muestra (WES).
- Compromiso de la inclusión de análisis bioinformático que incluya, en el caso de WGS, el alineamiento con el genoma de referencia (GRCh38), el variant calling, el análisis de CNVs, SVs, SNVs
- Debe cumplir al menos con los siguientes criterios: cobertura media de 30x, 150bp PE, 80GB raw data
- Secuenciación con tecnología de Illumina NovaSeq6000

2.1.- GARANTÍAS

Se requiere el cumplimiento de los siguientes requisitos:

- Se deberá realizar un control de calidad inicial, previo al procesamiento de las muestras.

- Las muestras deberán ser procesadas si pasan el control establecido. Por solicitud y responsabilidad correspondiente del contratista, las muestras pueden ser procesadas sin pasar el control de calidad.
- Secuenciación con Novaseq6000 de Illumina. La estrategia de secuenciación deberá ser por longitud de lectura emparejada 150 pb (PE150).
- Se deberá realizar un control de calidad sobre las bases secuenciadas y garantizar un parámetro de calidad Q30 (Phred Quality Score 30) igual o superior al 80 %.
- Se deberá garantizar la entrega digital de datos secuenciados sin procesar (FASTQ).
- Los resultados obtenidos serán propiedad del contratista y en ningún caso la empresa suministradora del servicio utilizará los datos sin consentimiento previo.
- Se deberá garantizar una profundidad de lecturas media de al menos 30x *on-target*.

2.2.- ALCANCE DEL PROYECTO: PRODUCTOS, REQUISITOS Y CARACTERÍSTICAS.

El proveedor del servicio designado, proporcionará los siguientes servicios:

2.2.1 Envío de muestra

El material suministrado será transportado a las instalaciones de laboratorio de la empresa contratada para prestar el servicio en un contenedor de dimensiones acordes al número de muestras y recomendado en hielo seco. Se estimará la cantidad necesaria de hielo seco según el tiempo de envío, consumiendo una media de 5 kg de hielo seco al día.

A la recepción de las muestras, se deberán almacenar en un congelador a -20°C hasta su procesamiento.

2.2.2 Control de calidad

La calidad del ADN genómico aislado se verificará mediante los siguientes métodos:

La degradación del ADN y la contaminación se monitorizará en geles de agarosa al 1%.

La concentración de ADN se medirá con el kit de ensayo de ADN Qubit® en el fluorómetro Qubit® 2.0

2.2.3 Preparación de las librerías

La construcción de la librería se deberá llevar a cabo con el NEB Next® Ultra™ DNA Library Prep Kit (Cat. nº E7370L).

El ADN genómico se fragmentará al azar mediante sonicación en tamaños de aproximadamente 350 pb, luego el ADN los fragmentos se mejorarán en los extremos, se colocarán en forma de A y se ligarán con los adaptadores de longitud completa de Illumina. Los productos PCR como construcción final de las librerías se deberán purificar con el sistema AMPure XP. Luego se verificarán las librerías para determinar el tamaño mediante

un analizador Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, CA, EE. UU.), y deberán ser cuantificadas por PCR en tiempo real (para cumplir con el criterio de 3 nM).

2.2.4 Secuenciación

La secuenciación deberá realizarse mediante un secuenciador Illumina de lecturas emparejadas de 150 pb con un equipo Novaseq6000.

La estrategia de secuenciación a utilizar será secuenciación de nueva generación (NGS) basada en Secuenciación por Tecnología por Síntesis - detección por fluorescencia del nucleótido añadido durante la síntesis de la cadena complementaria - y de forma paralelizada y masiva. La secuenciación de Novaseq6000 (Illumina) se utilizará para secuenciar las librerías. La estrategia deberá ser la lectura en pareja y con una longitud de 150 pb por lectura.

2.2.5 Control de calidad de datos

El control de calidad de los datos brutos, presentados en formato FASTQ, es un paso fundamental para determinar la calidad de las librerías y evaluar si la secuenciación se ha llevado a cabo con éxito o no. La empresa que suministre el servicio deberá analizar los datos secuenciados para garantizar la precisión y confiabilidad de los mismos, incluidos los factores tales como: calidad, tasa de error, puntuación Q30, tasa de contaminación del adaptador, porcentaje de bases N, porcentaje de nucleótidos A, C, T, G, N, porcentaje de *reads* limpios, etc.

La calidad de los datos se analizará en 4 aspectos fundamentales:

- (1) Distribución de calidad de la secuenciación
- (2) Distribución de la tasa de error de secuenciación
- (3) Distribución de la base A/T/G/C
- (4) Resultados de filtrado de datos sin procesar

2.2.6 Pipeline de análisis bioinformático requerido

El análisis bioinformático deberá siempre incluir:

- 1) El control de calidad de datos: filtrado de lecturas que contienen adaptadores o de baja calidad.
- 2) La alineación con el genoma de referencia (GRCh38), estadísticas de profundidad y cobertura de secuenciación.
- 3) Las llamadas, anotaciones y estadísticas SNP/InDel/SV/CNV.
- 4) Las llamadas, anotaciones y estadísticas de SNP/InDel/SV/CNV somáticos.

2.2.7 Tiempos de entrega y horarios

- Recogida de las muestras desde la comunicación a la empresa (máximo 2 días).
- Muestra de control de calidad (QC) (entre 2-3 días)
- Tiempo de respuesta del cliente sobre la calidad (1-2 días)
- Preparación de librerías, secuenciación y análisis de datos (25-28 días para un solo lote de menos de 50 muestras)
- Publicación de datos (1-2 días)

En cualquier caso, la totalidad del proceso no podrá exceder los 40 días totales.

2.3.- NÚMERO DE MUESTRAS

Para este pliego se requiere la secuenciación de 150 genomas (FIS21/01593) y 200 genomas (FIS20/01053) para un total de 350 genomas,

En Madrid a 18 de mayo de 2022

FIRMADO POR EL ÓRGANO DE CONTRATACIÓN,

D. Juan José Ríos Blanco

Presidente de la Comisión Delegada de la Fundación

CONFORME:

EL ADJUDICATARIO

FECHA Y FIRMA