

**PLIEGO DE PRESCRIPCIONES TÉCNICAS QUE HA DE REGIR EL CONTRATO DE SUMINISTRO DE MATERIALES/REACTIVOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR PARA EL GRUPO DE INVESTIGACIÓN TRASLACIONAL EN CIRUGÍA MAXILOFACIAL Y CÁNCER DE CABEZA Y CUELLO, PARA LA FUNDACIÓN PARA LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO LA PAZ, A ADJUDICAR POR PROCEDIMIENTO ABIERTO SIMPLIFICADO MEDIANTE PLURALIDAD DE CRITERIOS. El Proyecto PMP22/00083 ha sido financiado por el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) y con cargo a los fondos de Next Generation EU, que financian las actuaciones del Mecanismo de Recuperación y Resiliencia (MRR). Expediente PAS 26-2026**

## **ÍNDICE**

### **1. CARACTERÍSTICAS GENERALES**

- 1.1. Objeto del contrato.....
- 1.2. Legislación.....
- 1.3. Plazo de entrega .....

### **2. ESPECIFICACIONES TÉCNICAS DEL SUMINISTRO**

- 2.1. Unidades.....

**PLIEGO DE PRESCRIPCIONES TÉCNICAS QUE HA DE REGIR EL CONTRATO DE SUMINISTRO DE MATERIALES/REACTIVOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR PARA EL GRUPO DE INVESTIGACIÓN TRASLACIONAL EN CIRUGÍA MAXILOFACIAL Y CÁNCER DE CABEZA Y CUELLO, PARA LA FUNDACIÓN PARA LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO LA PAZ, A ADJUDICAR POR PROCEDIMIENTO ABIERTO SIMPLIFICADO MEDIANTE PLURALIDAD DE CRITERIOS. El Proyecto PMP22/00083 ha sido financiado por el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) y con cargo a los fondos de Next Generation EU, que financian las actuaciones del Mecanismo de Recuperación y Resiliencia (MRR). Expediente PAS 26-2026**

## **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 fibrosis pulmonar idiopática, para lo cual es necesario el suministro de materiales para la realización de técnicas aislamiento medidas de contenido de vesicular extracelulares y de biología molecular para el grupo de investigación traslacional de cirugía maxilofacial y cáncer de cabeza y cuello, para la Fundación para la Investigación Biomédica del Hospital Universitario La Paz (en adelante, FIBHULP)

La adquisición de este servicio facilitará ejecutar el proyecto PMP22/00083 del ISCIII y concedido a la Dra. Ana Sastre Perona como investigadora principal.

### **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 EJECUCIÓN

- La duración del contrato será como máximo hasta 30/06/2026 desde la firma del contrato por ambas partes, salvo que se complete el suministro con anterioridad a esta fecha, dándose por extinguido a partir de ese momento el contrato.
- Procede la prórroga del contrato: NO.
- Plazo de ejecución: el suministro se solicitará a la empresa proveedora tras la firma del contrato. El plazo máximo de entrega será de 10 días hábiles una vez solicitado el pedido al proveedor según las necesidades de la FIBHULP.

## 2. ESPECIFICACIONES TÉCNICAS

**Lote 1 Suero fetal bovino deplecionado de vesículas extracelulares.** Botella de 500 mL, formato líquido estéril, suplemento para cultivo celular destinado a investigación, suero de origen bovino fetal con procedencia geográfica declarada por lote de Estados Unidos, sometido a proceso validado de depleción de exosomas con reducción  $\geq 90\%$  de vesículas extracelulares endógenas, diseñado para estudios de aislamiento y caracterización de exosomas y otras vesículas extracelulares minimizando el fondo exosomal derivado del suero, no requiere ultracentrifugación adicional previa a su uso, esterilizado mediante triple filtración con membrana de  $0.1\ \mu\text{m}$ , libre de contaminación microbiana detectable según ensayos de esterilidad estándar, cada lote sometido a controles de calidad que incluyen verificación del nivel de depleción de exosomas y ensayo funcional de rendimiento en cultivo celular, certificado de análisis disponible por lote con parámetros dentro de los siguientes: Ensayo de endotoxinas 0.00–10.00 EU/mL, ensayo de depleción de exosomas resultado aceptable, hemoglobina 0.0–25.0 mg/dL, ensayos de micoplasma negativo, micoplasma suplementario tinción H negativo, osmolalidad 280–340 mOsm/kg, pH 6.9–7.8, ensayo de esterilidad negativo, tetraciclina no detectada, proteínas totales nivel aceptable, virus de la lengua azul por anticuerpos fluorescentes negativo, adenovirus bovino por anticuerpos fluorescentes negativo, parvovirus bovino por anticuerpos fluorescentes negativo, virus de la diarrea vírica bovina por anticuerpos fluorescentes ensayado, agentes citopatógenos negativo, agentes hemadsorbentes negativo, virus de la rabia por anticuerpos fluorescentes negativo, reovirus por anticuerpos fluorescentes negativo, virus respiratorio sincitial bovino por anticuerpos fluorescentes negativo. Apto para suplementación de medios basales en cultivo de células de mamífero, no destinado a uso clínico ni administración directa en humanos o animales, almacenamiento recomendado a  $\leq -10$  grados C, suministro y transporte en condiciones de congelación, vida útil aproximada de hasta 5 años desde la fecha de fabricación indicada en etiqueta, requiere descongelación controlada y homogeneización suave antes de su utilización para garantizar uniformidad. 500 mL por unidad de lote.

**Lote 2 Kit para el aislamiento de vesículas extracelulares.** Kit diseñado para la aislación eficiente de exosomas y otras vesículas extracelulares a partir de medios de cultivo celular, orina y líquido cefalorraquídeo (CSF), proporcionando una recuperación elevada y reproducible sin necesidad de ultracentrifugación ni de reactivos tóxicos, con un protocolo de menos de dos horas, que incluya 2 botellas de 25 ml de buffer de precipitación y 10 ml de buffer de resuspensión, totalmente compatible con el miRCURY LNA miRNA PCR System, permitiendo análisis directos de miRNA y RNA, que utilice un método de precipitación optimizado para fluidos biológicos humanos, logrando un alto enriquecimiento de exosomas mediante centrifugación tras la adición del buffer y la incubación a temperatura ambiente, seguido de la re-suspensión para

análisis posteriores. Debe de estar diseñado para concentrar muestras con cantidades limitadas de miRNA, como orina o CSF, minimizando inhibidores de PCR, adecuado para aplicaciones de perfilado molecular, comunicación célula a célula, regulación inmune, coagulación sanguínea, migración y diferenciación celular. Los exosomas aislados, con un tamaño aproximado de 20–120 nm, diferenciándose de microvesículas mayores (hasta 1 micrometro). El kit no debe requerir equipo especializado y debe facilitar la preparación de muestras para análisis downstream de alta calidad, escalable para la investigación de exosomas como biomarcadores y mediadores intercelulares. Los reactivos deben ser enviados a temperatura ambiente, deben mantenerse protegidos de la luz y almacenados a 2–8°C, permaneciendo estables por al menos 6 meses en envases cerrados. Cada unidad de lote debe de ser suficiente para aislar vesículas de 125 mL de sobrenadante.

**Lote 3 Kit para purificación de ácidos nucleicos de muestras biológicas.** Kit para la purificación y concentración de ácidos nucleicos circulantes libres, incluyendo ADN, ARN, miRNA y ácidos nucleicos virales, a partir de plasma, suero y orina humanos, basado en tecnología de membrana de sílice en formato Mini Columns, que permite la unión selectiva de fragmentos mayoritariamente cortos (ADN <1000 pb, ARN <1000 nt y miRNA ~21 nt), eliminando eficazmente proteínas, nucleasas e inhibidores de PCR mediante tres pasos de lavado, sin necesidad de extracción orgánica con fenol-cloroformo ni precipitación con etanol, proporcionando eluidos altamente puros listos para PCR, PCR en tiempo real y RT-PCR. El kit debe de estar diseñado para 50 preparaciones e incluir 50 Mini columns, 2 x 25 Tube Extenders (20 ml), 50 tubos de recolección de 2 ml, 50 tubos de elución de 1,5 ml, 50 Vacuum Connectors, 220 ml de Buffer ACL (que contiene isotiocianato de guanidina), 300 ml de Buffer ACB (concentrado), 19 ml de Buffer ACW1 (concentrado), 13 ml de Buffer ACW2 (concentrado), 5 x 2 ml de Buffer AVE (tapones morados), 4 x 7 ml de Proteinase K y 310 µg de Carrier RNA (tapones rojos); algunos reactivos contienen azida sódica como conservante. Debe de permitir procesar volúmenes de muestra de 1 a 5 ml mediante vacío, con volúmenes de elución flexibles entre 20 y 150 microlitros que facilitan la concentración de especies presentes en bajas cantidades (típicamente 1–100 ng/ml en plasma), completando hasta 24 muestras en menos de 2 horas. El sistema debe de mantener la metilación del ADN para análisis posteriores con conversión por bisulfito, permitir la purificación de ARN sin co-purificación de ADN mediante digestión con DNasa libre de RNasa, y ofrecer rendimientos reproducibles representativos de la población total de ácidos nucleicos circulantes, siendo adecuado para investigación en biomarcadores oncológicos, detección de ADN tumoral extracelular y análisis de ácidos nucleicos virales, exclusivamente para uso en investigación y no destinado a diagnóstico, prevención o tratamiento de enfermedades. Cada unidad de lote debe ser para 50 reacciones.

**Lote 4 Kit para la medida de distribución genómica de proteínas asociada a la cromatina en condiciones nativas y bajo número de células.** Kit optimizado para el análisis de la distribución genómica de proteínas asociadas a cromatina y de sus modificaciones postraduccionales mediante la tecnología CUT&RUN (Cleavage Under Targets and Release Using Nuclease), que permita el perfilado epigenómico de alta resolución sin necesidad de entrecruzamiento proteína-ADN, preservando así la estructura nativa de la cromatina y reduciendo el ruido de fondo típico de los ensayos ChIP convencionales. El método debe de basarse en la incubación de núcleos intactos con un anticuerpo específico frente a la proteína o marca de interés, seguido de la adición de una nucleasa microcócica fusionada a proteína A/G (pAG-MNasa), que se recluta específicamente al complejo anticuerpo-proteína diana y, tras activación con CaCl<sub>2</sub>, escinde el ADN en proximidad inmediata a los sitios de unión, liberando fragmentos específicos que se purifiquen y se sometan posteriormente a secuenciación de nueva generación para su alineamiento frente al genoma de referencia y determinación precisa de los sitios de interacción. El kit debe de incluir un protocolo

optimizado para perfilado genómico sensible y específico a partir de entre 5.000 y 500.000 células por reacción, minimizando requerimientos de material inicial y mejorando la relación señal/ruido. Debe de contener un cóctel inhibidor de proteasas, pAG-MNasa, anticuerpo control positivo frente a Histona H3K4me3, control negativo IgG, espermidina, tampón de aislamiento nuclear, perlas de Concanavalina A para inmovilización celular, CaCl<sub>2</sub> para activación enzimática, solución STOP, tampones de unión y lavado (Dig-Wash), EDTA, tampones de purificación y elución de ADN, acetato, columnas de purificación de ADN SF, RNasa A, digitonina para permeabilización y tubos de reacción de 0,2 mL. Cada unidad de lote debe de proporcionar reactivos suficientes para 24 reacciones completas.

**Lote 5 Kit para preparación de librerías de ADN.** Kit de preparación de librerías diseñado para la construcción eficiente de librerías de secuenciación a partir de ADN bicatenario, optimizado para su compatibilidad directa con plataformas de secuenciación de nueva generación Illumina. Debe de permitir trabajar con cantidades bajas de ADN de entrada, desde 0,5 ng hasta 10 ng, siendo adecuado para aplicaciones como CUT&RUN, ChIP-seq, ATAC-seq u otras técnicas que generan fragmentos de ADN en bajo input. El flujo de trabajo debe de incluir reparación de extremos para generar extremos romos y fosforilados, adenilación en el extremo 3', ligación de adaptadores compatibles con Illumina mediante T4 DNA ligasa, purificación basada en perlas magnéticas SPRI para selección y limpieza de fragmentos, y amplificación por PCR utilizando la polimerasa de alta fidelidad Q5 NGS Master Mix para enriquecer las moléculas correctamente adaptadas. El kit debe de contener tampón de reparación de extremos, mezcla enzimática de reparación, adaptadores Illumina, ligasa T4 de ADN, polimerasa Q5 NGS MM, TT Buffer, perlas SPRI y PEG para optimización de la ligación y selección de tamaño, proporcionando reactivos suficientes para 48 preparaciones de librerías listas para indexación y secuenciación en sistemas Illumina. Los reactivos deben de entregarse a dos temperaturas, 4 °C (SPRI beads y PGE) y a -20 °C el resto de los componentes.

**Lote 6 Kit de cebadores para el indexado de muestras.** Conjunto de cebadores de indexación dual diseñados para la multiplexación de librerías compatibles con plataformas de secuenciación Illumina, que permita la identificación individual de hasta 48 muestras en una misma corrida de secuenciación mediante combinaciones únicas de índices i5 e i7. El kit debe de incluir seis cebadores de indexación i5 (20 microlitros cada uno, concentración 10 micromolar) y ocho cebadores de indexación i7 (15 microlitros cada uno, concentración 10 micromolar), formulados para incorporarse durante la etapa de PCR de enriquecimiento de librería, generando adaptadores completos con índices duales que minimizan el riesgo de “index hopping” y mejoran la precisión de asignación de lecturas en experimentos multiplexados. Los cebadores se deben de suministrar listos para uso, deben almacenarse a -20 grados C para mantener su estabilidad, y estar optimizados para su uso conjunto con kits de preparación de librerías compatibles con Illumina, facilitando una estrategia robusta de secuenciación de múltiples muestras en aplicaciones epigenómicas y transcriptómicas de alto rendimiento. Cada unidad de lote debe de ser suficiente para 48 muestras.

**Lote 7 Kit de retrotranscripción.** Kit de reacción de transcripción inversa optimizado para RT-qPCR en dos pasos, para síntesis rápida y eficiente de ADN complementario (ADNc) a partir de ARN total, permitiendo generar plantillas de ADNc de alta calidad para análisis cuantitativos en tiempo real mediante qPCR con detección tanto mediante intercaladores como mediante sondas específicas, con protocolos adaptados para cada método. El kit debe de proveer suficiente reactivo para 200 reacciones e incluir 400ul de 5X Buffer (que contiene mezcla de dNTP y Mg<sup>2+</sup>), 100ul de RT Enzyme Mix I (enzima de transcriptasa inversa con inhibidor de RNasa), 100ul (50uM) de Oligo dT Primer, 400ul (100uM) Random 6 mers, 1ml de agua libre de RNasa y 1ml de reactivo



de dilución (“EASY Dilution”) para la generación de curvas estándar, facilitando la dilución precisa de ARN o cDNA para cuantificación en amplio rango dinámico. La enzima es una versión modificada de transcriptasa inversa tipo MMLV con excelente capacidad de extensión y sin actividad RNasa H, lo que favorece la síntesis de ADNc incluso de ARN con estructuras secundarias complejas o ricos en GC, y permite realizar la reacción eficazmente a temperaturas moderadas (37-42 °C) para minimizar la degradación del ARN. El ciclo de la RT debe de ser de 15 minutos de duración. El kit debe de soportar el uso de primers Oligo dT, Random 6 mers o primers gene-específicos según las necesidades experimentales, y ser adecuado para análisis de expresión génica cuantitativa en una amplia gama de concentraciones de plantilla; mejorando la precisión de cuantificación en ensayos de qPCR. Todas las reacciones y reactivos deben almacenarse a -20 °C y utilizar equipamiento estándar de biología molecular (termociclador, pipetas RNasa-free) para garantizar la integridad del ARN y la reproducibilidad de los resultados. Cada unidad de lote debe de ser suficiente para 200 reacciones.

**Lote 8 Kit de conversión por bisulfito de ADN.** Kit diseñado para la conversión por bisulfito del ADN y posterior purificación, permitiendo el análisis de metilación del ADN a nivel de citosina mediante técnicas de epigenómica como PCR específica de metilación, PCR en tiempo real, secuenciación por bisulfito, pirosecuenciación y plataformas de secuenciación de nueva generación (NGS). El método se debe de basar en la conversión química selectiva de citosinas no metiladas en uracilos mediante tratamiento con bisulfito de sodio, mientras que las citosinas metiladas deben de permanecer sin modificar como 5-metilcitosina, lo que permite identificar posteriormente el estado de metilación de cada sitio CpG tras amplificación o secuenciación. Que incorpore 20 tubos para 200 reacciones de reactivo optimizado, listo para usar, que combine en un único paso la desnaturalización del ADN y la reacción de conversión química, reduciendo significativamente el tiempo experimental y minimizando la degradación del ADN durante el proceso. Tras la conversión, el ADN se somete a una etapa de desulfonación química y purificación mediante columnas de centrifugación tipo Spin, basadas en la unión del ADN a una matriz de sílice, seguido de varios pasos de lavado para eliminar bisulfito residual, sales y contaminantes, finalizando con la elución del ADN convertido en un volumen reducido superior o igual a 10ul. El protocolo completo debe de tener una duración aproximada de 1.5 horas. El sistema debe de presentar una eficiencia de conversión superior al 99,5 % de las citosinas no metiladas y una recuperación de ADN superior al 80 %, permitiendo trabajar con cantidades de ADN de entrada comprendidas entre 100 pg y 2 µg, lo que lo hace adecuado para muestras limitadas o de baja concentración. El kit debe de incluir todos los reactivos necesarios para el proceso de conversión y purificación, entre ellos 20 tubos para 200 reacciones de reactivo equivalente a Lightning Conversion Reagent, 125 ml de Binding Buffer para la unión del ADN a la columna, 24ml de Wash Buffer para el lavado de contaminantes, 40ml de Desulphonation Buffer para la eliminación de grupos sulfonato generados durante la reacción de bisulfito, 4ml de Elution Buffer para la recuperación final del ADN convertido, así como 200 columnas de purificación Spin IC y 200 tubos de recogida, siendo necesario únicamente un termociclador con tapa calefactada y una microcentrífuga para completar el procedimiento. El ADN obtenido tras el proceso corresponde a ADN monocatenario modificado por bisulfito, debe de ser altamente adecuado para aplicaciones de análisis epigenético como methylation-specific PCR, análisis de metilación mediante PCR cuantitativa, secuenciación por bisulfito, análisis de metilación por pirosecuenciación, arrays de metilación o preparación de librerías para secuenciación de genoma completo tras conversión por bisulfito (WGBS) o técnicas como RRBS, utilizado en investigación biomédica y análisis de biomarcadores de metilación en distintos tipos de muestras biológicas. Todo a temperatura ambiente. Cada unidad de lote debe de ser suficiente para 200 reacciones.

## 2.1. UNIDADES

| LOTES  | UNIDADES<br>DE LOTE |
|--------|---------------------|
| Lote 1 | 1                   |
| Lote 2 | 4                   |
| Lote 3 | 3                   |
| Lote 4 | 4                   |
| Lote 5 | 2                   |
| Lote 6 | 2                   |
| Lote 7 | 4                   |
| Lote 8 | 1                   |

Madrid, a 11 de marzo de 2026

POR EL ÓRGANO DE CONTRATACIÓN,

D. Francisco García Río

Presidente de la Comisión Delegada de la Fundación

CONFORME:

EL ADJUDICATARIO

FECHA Y FIRMA