

## CAPITOLATO SPECIALE DESCRITTIVO E PRESTAZIONALE

Procedura aperta ai sensi dell'art. 60 del D.Lgs. n. 50/2016 s.m.i. per l'affidamento di servizi per il processamento di campioni biologici umani che prevedano l'estrazione del DNA genomico e la generazione di dati di genotipizzazione con array su circa 25.000 partecipanti allo studio Moli-sani.

**CIG 8916586789**

## INDICE

1. Oggetto Premessa.....	3
2. Requisiti primari del Servizio.....	4
2.1. Estrazione del DNA.....	4
2.2. Design dell'array.....	5
2.3. Manifattura dell'array .....	5
2.4. Fornitura dei campioni di buffy coat crioconservati e dei DNA estratti .....	6
2.5. Fornitura di dati sul genotipo ai ricercatori di HT .....	6
2.6. Capacità Bioinformatica .....	7
3. Altri requisiti .....	7
3.1. Quality management – gestione della qualità.....	7
3.2. Resilienza e sicurezza dei processi/dati .....	7
3.3. Project management.....	7
4. Penali	8

## 1. Oggetto Premessa

- La Fondazione Human Technopole (di seguito “Fondazione HT”) è una fondazione istituita dall’art. 1, comma 116, della legge 11 dicembre 2016, n. 232, disciplinata dagli articoli 14 e ss. del Codice Civile, dalla citata legge 11 dicembre 2016, n. 232, dal Regolamento (D.P.C.M. 27/02/2018) e dallo Statuto (D.P.C.M. 27/03/2018) e finanziata dallo Stato, per lo svolgimento di attività di ricerca scientifica di interesse generale, la cui sede principale è a Milano.
- La Fondazione HT sta effettuando studi genetici di tratti clinicamente rilevanti nello studio Moli-sani (<https://www.moli-sani.org/>).
- Il Neuromed Biobanking Centre, situato a Pozzilli (IS), è stato istituito da IRCCS Istituto Neurologico Mediterraneo Neuromed (NEUROMED) e autorizzato dalla Giunta Regionale del Molise come “Istituto di cellule, tessuti e DNA umani”. Conserva campioni biologici di donatori e pazienti che partecipano ai progetti di ricerca intrapresi da NEUROMED e da altri istituti di ricerca collaboratori.
- “Moli-sani” (<https://www.moli-sani.org/>) è uno studio di coorte volto a valutare i fattori di rischio/protettivi (ambientali, genetici, biomolecolari) legati alle malattie cronico-degenerative, in particolare oncologiche, malattie cardiovascolari e loro fenotipi intermedi, ipertensione, diabete, dislipidemia, obesità e sindrome metabolica.
- Lo studio ha reclutato, tra marzo 2005 e aprile 2010, persone di età  $\geq 35$  anni residenti nella regione Molise e comprende circa 25.000 partecipanti. Per ogni partecipante è stato isolato un campione di buffy coat e crioconservato per la successiva estrazione del DNA.
- La Fondazione HT richiede un fornitore di servizi per il processamento dei campioni, compresa l'estrazione del DNA e la generazione di dati di genotipizzazione su circa 25.000 partecipanti allo studio Moli-sani.
- Il fornitore aggiudicatario dovrà eseguire il servizio completo, che comprende: presa in carico di tutti i campioni di buffy coat presso la sede di Neuromed Biobanking Center e relativa spedizione degli stessi presso la sede indicata dal fornitore, l'estrazione del DNA da tutti i campioni di buffy coat crioconservati, la spedizione delle aliquote di DNA estratto presso la sede della Fondazione HT (come indicato al punto 2.4 del presente capitolato), la progettazione, l'ottimizzazione e la validazione dell'array per le analisi di genotipizzazione, la successiva genotipizzazione di circa 25.000 campioni e la consegna di genotipi la cui “chiamata genotipica” sia stata validata dal punto di vista qualitativo. Il Fornitore dovrà collaborare con i ricercatori della Fondazione HT per il miglioramento dei dati di genotipizzazione che verranno prodotti.
- L'array dovrà valutare almeno 750.000 varianti che dovranno consentire analisi di imputazione altamente efficienti, dovrà includere marcatori associati a gruppi sanguigni e alloantigeni. oltre alla possibilità di inserire eventualmente una porzione di varianti custom indicate dal team di ricercatori di HT
- Il Neuromed Biobanking Center fornirà campioni di buffy coat crioconservati al fornitore aggiudicatario.

- I dati ottenuti dalle analisi di genotipizzazione dovranno essere riconsegnati dal fornitore aggiudicatario ai ricercatori della Fondazione HT in tempi concordati e in un formato concordato, con adeguati protocolli volti a garantire la sicurezza del trasferimento dei dati.

## 2. Requisiti primari del Servizio

Il servizio richiesto dalla Fondazione HT al fornitore consiste in:

- **Estrazione del DNA genomico da circa 25.000 campioni di buffy coat crioconservati in biobanking straws presso il Neuromed Biobanking Centre.** Il fornitore dovrà effettuare tutte le estrazioni di DNA genomico e i controlli qualitativi e quantitativi dell'intero lotto di campioni entro 2 mesi dalla fornitura dei campioni stessi e garantire che i campioni di DNA estratti siano compatibili sia con analisi di genotipizzazione con array sia con analisi tramite tecnologie Next Generation Sequencing (NGS);
- **Progettazione e produzione di array e generazione di dati genotipici su circa 25.000 volontari dello studio Moli-Sani entro 9 mesi dalla fornitura dei campioni di buffy coat da parte del NeuroMed Biobanking Centre.** Il fornitore dovrà effettuare tutti gli step necessari per l'analisi di genotipizzazione dei campioni e dovrà fornire ai ricercatori della Fondazione HT chiamata genotipica completa di tutti i segnali delle sonde presenti sull'array. Per chiarezza, consideriamo chiamata genotipica completa una analisi dei genotipi in cui è stata effettuata una precisa assegnazione allelica per ogni singola posizione, in cui sia stato effettuato un controllo adeguato relativamente a possibili artefatti o batch effect, i dati dovranno essere forniti in una forma adatta ad effettuare valutazioni di phasing e analisi di imputazione degli aplotipi.

L'esecuzione del Servizio deve essere effettuata nel rispetto di condizioni, modalità, requisiti tecnici, livelli di servizio e termini di cui al presente Capitolato Speciale descrittivo e nelle eventuali migliori condizioni riportate nella relazione Tecnica presentata dal Fornitore in fase di sottomissione dell'offerta, da intendersi quali obbligazioni minime essenziali ai fini della corretta esecuzione del Servizio.

### 2.1. Estrazione del DNA

- Il fornitore aggiudicatario dovrà effettuare l'estrazione del DNA genomico da circa 25.000 campioni di buffy coat crioconservati in biobanking straws **entro 2 mesi dalla fornitura dei campioni**.
- I campioni dovranno essere estratti con protocolli di estrazione basati sulla purificazione del DNA su membrane silicee senza l'utilizzo di fenolo-cloroformio.
  - Il fornitore dovrà garantire l'estrazione di DNA genomico privo di RNA senza alcuna contaminazione da potenziali inibitori di PCR e in un intervallo di concentrazione finale compatibile sia con analisi di genotipizzazione con array sia con analisi tramite Next Generation Sequencing (NGS);
- Il fornitore dovrà effettuare controlli qualitativi e quantitativi su tutti i DNA genomici estratti.

## 2.2. Design dell'array

- Il fornitore aggiudicatario dovrà lavorare con il team scientifico della Fondazione HT nella fase di progettazione dell'array, al fine di produrre un array in grado di misurare con precisione almeno 750.000 varianti uniche, che preveda la possibilità di inserire una porzione di varianti custom indicate dal team HT e che contenga marcatori associati a gruppi sanguigni e alloantigeni.
- Il fornitore dovrà includere in allegato alla relazione tecnica, da presentare in fase di sottomissione dell'offerta tecnica, un elenco completo delle varianti che sarà possibile analizzare con l'array proposto, i loro identificativi univoci, il grado di priorità e qualunque altra informazione ritenuta pertinente ai fini del progetto.
- Il fornitore, attraverso cicli iterativi di miglioramento nella progettazione dovrà produrre un array che sia in grado di fornire chiamate dei genotipi allineate agli standard clinici per almeno l'80% delle varianti elencate in primo luogo, proporrà poi una tempistica di sviluppo per arrivare ad almeno 95 % di varianti genotipizzate che possano soddisfare gli standard clinici. Si richiede al fornitore di mettere in campo tutte le misure necessarie per ottenere un'accuratezza del 100% delle chiamate dei genotipi per tutte le varianti elencate.
- Il design finale dell'array, il cui contenuto complessivo e definitivo sarà concordato tra il team della Fondazione HT e il fornitore, dovrà includere:
  - Varianti che garantiscano un'ampia copertura a livello genomico, esomico e che permettano analisi di tipo GWAS;
  - Marcatori specifici associati a perdita di funzioni (loss of function), che permettano di analizzare inserzioni e delezioni, marcatori sui cromosomi X e Y, su DNA mitocondriale ed eQTL;
  - Marcatori associati a malattie note;
  - Marcatori che consentano di effettuare in modo efficiente analisi di imputazione dei dati provenienti da studi effettuati con array di altri produttori;
  - Varianti selezionate da studi di sequenziamento italiani.

## 2.3. Manifattura dell'array

- Il fornitore aggiudicatario dovrà avere la capacità di produrre o procurarsi array in modo che la genotipizzazione possa essere completata **entro 6 mesi dalla ricezione del lotto finale** di campioni di buffy coat crioconservati dal NeuroMed Biobanking Centre.
- Tale attività includerà tutti i processi, dalla progettazione alla produzione degli array, comprese tutte le fasi di validazione e controlli di qualità necessari.

#### 2.4. Fornitura dei campioni di buffy coat crioconservati e dei DNA estratti

- Circa 25.000 campioni di buffy coat crioconservati in biobanking straws che contengono circa 400ul di campione ciascuna, saranno inviati dal Neuromed Biobanking Center al fornitore aggiudicatario.
- La fornitura dei campioni potrà essere consegnata al fornitore aggiudicatario in unica soluzione o in diverse tranches.
- Il fornitore aggiudicatario dovrà estrarre tutti i 25.000 DNA come descritto al punto 2.1.
- Le Aliquote di DNA estratto dovranno essere così gestite:
  - un'aliquota di DNA (contenente almeno 1ug di DNA) dovrà essere consegnata dal fornitore alla Fondazione HT in piastre con 96 pozzetti, ciascuna etichettata con codice a barre tramite spedizione in ghiaccio secco;
  - un'altra aliquota del DNA estratto dovrà essere utilizzata dal fornitore aggiudicatario per eseguire le analisi di genotipizzazione sull'intero set di campioni;
  - un'ulteriore aliquota di DNA estratto dovrà essere conservata dal fornitore aggiudicatario del servizio fino alla fine del progetto. Dopo la fine del progetto anche questa terza aliquota di DNA dovrà essere consegnata alla Fondazione HT secondo le modalità precedentemente descritte per la prima aliquota.
- Il fornitore aggiudicatario dovrà inviare alla Fondazione HT, insieme ai campioni di DNA, una relazione contenente tutti i dati ottenuti in seguito alle validazioni qualitative e quantitative effettuate sull'intero set di DNA estratti.
- In fase di sottomissione dell'offerta tecnica, si chiede di specificare:
  - la dimensione del lotto di campioni e la frequenza di consegna dei campioni di DNA alla Fondazione HT (è preferibile una sola spedizione di tutti i campioni);
  - come verranno eseguiti i controlli qualitativi e quantitativi sui DNA estratti e tutte le informazioni che saranno incluse nella relazione richiesta.
- Qualsiasi campione di buffy coat non utilizzato dal fornitore di servizi sarà restituito al Centro Biobanca NeuroMed.
- Il fornitore aggiudicatario dovrà spiegare in modo dettagliato perché il campione di buffy coat è stato considerato inutilizzabile per estrarre il DNA.

#### 2.5. Fornitura di dati sul genotipo ai ricercatori di HT

- Il fornitore aggiudicatario dovrà **fornire i dati derivanti dall'analisi dei genotipi di tutti i campioni entro 9 mesi dalla ricezione del lotto finale** di campioni di buffy coat crioconservati, in un formato e con una frequenza concordata con il team di ricerca della Fondazione HT.

## **2.6. Capacità Bioinformatica**

- La Fondazione HT richiederà al fornitore aggiudicatario di garantire un supporto informatico collaborativo e dedicato per la fase di progettazione dell'array, la generazione iniziale dei dati e la valutazione della qualità dei dati e qualsiasi step di validazione dei dati stessi.

## **3. Altri requisiti**

### **3.1. Quality management – gestione della qualità**

- I candidati dovranno indicare quali approcci (compresi eventuali accreditamenti di qualità riconosciuti a livello internazionale) utilizzeranno per la gestione della qualità dell'intero processo di estrazione del DNA e genotipizzazione dei campioni, compresi i protocolli di estrazione del DNA e di controllo qualità che verranno effettuati sui DNA estratti, la progettazione, la produzione e la validazione degli array, la generazione dei dati e la validazione della qualità dei dati stessi e qualsiasi protocollo per la successiva elaborazione dei dati. I candidati dovranno inoltre descrivere in dettaglio tutti i dati qualitativi e quantitativi che verranno inclusi nella relazione che descriverà la valutazione dei DNA estratti e tutti i file che verranno generati in seguito all'analisi per la chiamata dei genotipi e che verranno consegnati al team di HT.

### **3.2. Resilienza e sicurezza dei processi/dati**

- I candidati dovranno descrivere nella loro relazione tecnica i processi, i sistemi e le infrastrutture proposti per mitigare i rischi per la realizzazione del progetto per quanto riguarda l'estrazione del DNA e la genotipizzazione, inclusi i seguenti rischi specifici:
  - prevenzione della perdita/degradazione dei lotti di campioni di buffy coat crioconservato spediti dal Neuromed Biobanking Center;
  - prevenzione dell'accesso non autorizzato ai lotti conservati di DNA estratti;
  - sistemi per impedire l'accesso non autorizzato ai dati di genotipizzazione;
  - protocolli di trasferimento dati per il trasferimento di dati da e verso il team di HT (includere eventuali protocolli di crittografia o certificazione);
  - sistemi per prevenire la perdita dei dati di genotipizzazione prima della trasmissione a HT.

### **3.3. Project management**

- La Fondazione HT dedicherà al presente progetto un technical project manager che interagirà direttamente con il fornitore aggiudicatario per assicurare un efficiente flusso di campioni e dati, nonché per sviluppare e riportare metriche di progetto appropriate.
- Il technical project manager della Fondazione HT sarà il principale punto di contatto per la gestione quotidiana del progetto e per la pianificazione e la risoluzione dei problemi.

- Il technical project manager della Fondazione HT incontrerà periodicamente il fornitore aggiudicatario per verificare e garantire un avanzamento soddisfacente del progetto.

#### **4. Penali**

- Estrazione del DNA Art. 2.1.: nel caso di mancata consegna entro 2 mesi dalla fornitura dei campioni la Fondazione HT applicherà una penale pari allo 0,03 ‰ dell'importo complessivo del servizio per ogni giorno di ritardo;
- Manifattura dell'array Art 2.3.: nel caso di mancato completamento entro 6 mesi dalla ricezione del lotto finale di campioni di buffy coat la Fondazione HT applicherà una penale pari allo 0,03 ‰ dell'importo complessivo del servizio per ogni giorno di ritardo;
- Fornitura di dati sul genotipo ai ricercatori di HT Art 2.5.: nel caso di mancata fornitura dei dati derivanti dall'analisi dei genotipi di tutti i campioni entro 9 mesi dalla ricezione del lotto finale, la Fondazione HT applicherà una penale pari allo 0,03 ‰ dell'importo complessivo del servizio per ogni giorno di ritardo;
- In caso di mancato rispetto dei livelli di servizio e/o di uno qualsiasi dei requisiti indicati nell'offerta tecnica la Fondazione HT applicherà una penale pari allo 0,03 ‰ dell'importo complessivo del servizio per ogni giorno di inadempienza e per ogni requisito mancante.
- Qualora i ritardi nell'adempimento determinino un importo della penale superiore complessivamente al 10% dell'intero importo contrattuale, la Fondazione HT si riserva la facoltà di procedere alla risoluzione del Contratto.
- Oltre le penali di cui sopra, è fatta salva la richiesta di maggior danno per qualsiasi pregiudizio patito dalla Fondazione HT eccedente il valore delle penali.
- La Fondazione HT potrà dare luogo alla disapplicazione totale o parziale della penale quando, a fronte di motivata richiesta scritta dall'Operatore economico aggiudicatario riconosca che i) il ritardo non è imputabile all'Operatore Economico aggiudicatario oppure ii) che la penale è manifestamente sproporzionata rispetto al proprio interesse. La disapplicazione della penale non dà diritto all'operatore Economico aggiudicatario a compensi o indennizzi di sorta.