

## **CAPITOLATO TECNICO**

**HT\_2022\_303\_ PROCEDURA RISTETTA DI CUI ALL'ART. 61 DEL D.LGS. N. 50/2016 PER L'AFFIDAMENTO DELL'APPALTO SPECIFICO AI SENSI DELL'ART. 55 D.LGS. N. 50/2016, INDETTO DALLA FONDAZIONE HUMAN TECHNOPOLE PER L'AFFIDAMENTO DI SERVIZI PER IL PROCESSAMENTO DI CAMPIONI UMANI CHE PREVEDANO IL SEQUENZIAMENTO DEL GENOMA, DEL METILOMA E DEL TRASCRITTOMA A SINGOLA CELLULA.**

**CIG 9311874185**

## INDICE

1. Oggetto Premessa.....	3
2. Requisiti primari del Servizio.....	3
2.1. Fornitura di campioni al fornitore di servizi di sequenziamento .....	4
2.2. Generazione e fornitura di dati di sequenziamento con piattaforme NGS.....	5
2.3. Capacità Bioinformatica .....	5
3. Altri requisiti .....	5
3.1. Quality management – gestione della qualità.....	5
3.2. Resilienza e sicurezza dei processi/dati.....	5
3.3. Tempi di consegna e processazione dei campioni .....	5
3.4. Project management .....	6

## 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 richiede un fornitore di servizi per il sequenziamento dell’intero genoma, del metiloma e sequenziamento di librerie a singola cellula.

Il fornitore aggiudicatario dovrà eseguire il servizio, che comprende: presa in carico di tutti i lotti di campioni di DNA e di campioni fissati presso le sedi che verranno indicate da HT e relativa spedizione degli stessi presso la sede indicata dal fornitore, il successivo processamento di tutti i lotti di campioni con la preparazione di librerie per il sequenziamento genomico, metilomico e trascrittomico e la generazione di dati di sequenziamento per tutti i lotti di campioni con piattaforme NGS e la successiva consegna di tutti i dati con relativa validazione bioinformatica dal punto di vista qualitativo e quantitativo. Il Fornitore dovrà inoltre rendersi disponibile a collaborare con i ricercatori della Fondazione HT per il miglioramento dei dati di sequenziamento che verranno prodotti in fase iniziale sui diversi lotti di campioni.

Il sequenziamento dell’intero genoma di tutti i lotti di campioni dovrà essere effettuato raggiungendo una coverage medio dell’intero genoma umano pari a 40X con la generazione di reads 150 bp Paired End utilizzando piattaforme di sequenziamento NGS di ultima generazione.

L’analisi del metiloma dovrà essere effettuata in maniera equivalente, selezionando un metodo per tutti i campioni fra:

- Il sequenziamento dell’intero genoma con trattamento al bisulfito per il sequenziamento del metiloma dei lotti di campioni dovrà essere effettuato con una coverage medio pari a 30X, con la generazione di reads 150 bp Paired End, utilizzando piattaforme di sequenziamento NGS di ultima generazione.
- Un kit di arricchimento di un pannello di CpG non inferiore a 3.5M di CpG, sequenziato secondo raccomandazioni del produttore del kit e utilizzando piattaforme di sequenziamento NGS di ultima generazione.

La generazione ed il sequenziamento di librerie a singola cellula dovrà essere fatto specificamente con tecnologia Fixed RNA Profiling (10x Genomics), con target 7000 cellule recuperate e 25,000 read pairs/cell, utilizzando piattaforme di sequenziamento NGS di ultima generazione.

I dati ottenuti dalle analisi di sequenziamento dovranno essere riconsegnati dal fornitore aggiudicatario ai ricercatori della Fondazione HT entro una data di scadenza in seguito specificata 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:

Presa in carico di tutti i lotti di campioni presso le sedi che verranno indicate da HT e relativa spedizione degli stessi presso la sede indicata dal fornitore.

Il fornitore dovrà effettuare controlli qualitativi e quantitativi su tutti i lotti di campioni ricevuti.

Generazione di librerie per il sequenziamento genomico (Whole Genome Sequencing) con un protocollo per la preparazione di librerie che permetta di partire da un input di DNA in un range da un minimo di quantità di 250 ng a un massimo di 1 µg. Dovrà essere utilizzato lo stesso protocollo per la preparazione delle librerie per tutti i lotti di campioni.

Generazione di librerie per il sequenziamento del metiloma con un protocollo per la preparazione di librerie che permetta di partire da un input di DNA in un range da un minimo di quantità di 500 ng a un massimo di 1 µg. In alternativa è possibile utilizzare un kit di arricchimento di un pannello di CpG non inferiore a 3.5M di CpG, sequenziato secondo raccomandazioni del produttore del kit e utilizzando piattaforme di sequenziamento NGS di ultima generazione. Dovrà tuttavia essere utilizzato lo stesso protocollo per la preparazione delle librerie per tutti i lotti di campioni.

Sequenziamento delle librerie tramite l'utilizzo di piattaforme di sequenziamento NGS di ultima generazione selezionata opportunamente dal fornitore di servizi per le loro caratteristiche tecniche e per la loro flessibilità operativa. Dovrà essere utilizzato lo stesso tipo di tecnologia di sequenziamento NGS per tutti i lotti di campioni.

Generazione di reads di sequenziamento con una lunghezza minima di 150 bp Paired End per il sequenziamento genomico (Whole Genome Sequencing), una lunghezza minima di 150 bp Paired End per metiloma ed una lunghezza minima come richiesto dal kit di preparazione delle librerie di singola cellula (Fixed RNA Profiling 10x Genomics) e per il kit di arricchimento per metiloma. Per tutti i campioni (sequenziamento genomico, metilomico e singola cellula) le librerie sequenziate devono avere un livello mediano di qualità nella chiamata delle basi compreso tra 35 e 40 (median base quality score between 35 and 40).

Un coverage genomico medio pari a 40X per ciascun campione dovrà essere garantito. Almeno l'85% del genoma di ciascun campione dovrà avere un coverage pari o superiore a 10X per le librerie genomiche.

Dovrà essere garantito una coverage per il kit di arricchimento di metiloma di almeno 20Gbasi.

Ogni passaggio dei servizi (generazione di librerie di singola cellula, generazione di librerie di WBS, generazione di librerie di metiloma) deve essere effettuato nelle stesse modalità e dallo stesso laboratorio.

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. Fornitura di campioni al fornitore di servizi di sequenziamento**

La fornitura dei campioni potrà essere consegnata al fornitore aggiudicatario con un massimo di 4 lotti di campioni di dimensioni simili.

Il fornitore aggiudicatario dovrà garantire alla Fondazione HT la possibilità di procedere con l'analisi dei lotti di campioni in territorio UE.

Il fornitore aggiudicatario dovrà inviare alla Fondazione HT, una relazione contenente tutti i dati ottenuti in seguito alle analisi qualitative e quantitative effettuate su tutti i lotti di campioni ricevuti

In fase di sottomissione dell'offerta tecnica, si chiede di specificare come verranno eseguiti i controlli qualitativi e quantitativi sui campioni e tutte le informazioni che saranno incluse nella relazione richiesta.

Qualsiasi campione non utilizzato dal fornitore di servizi sarà restituito al Centro da cui è stato spedito.

Il fornitore aggiudicatario dovrà spiegare in modo dettagliato perché il campione è stato considerato inutilizzabile per la preparazione delle librerie per il sequenziamento.

## 2.2. Generazione e fornitura di dati di sequenziamento con piattaforme NGS

Il fornitore aggiudicatario dovrà **fornire i dati derivanti dal sequenziamento di tutti lotti di campioni che avrà ricevuto, entro dicembre 2022**, in un formato e con una frequenza e modalità di trasferimento dei dati concordata con il team di ricerca della Fondazione HT.

Il fornitore aggiudicatario dovrà **fornire i dati derivanti dal sequenziamento del singolo lotto di campioni che avrà ricevuto.**

## 2.3. Capacità Bioinformatica

La Fondazione HT richiederà al fornitore aggiudicatario di garantire un supporto informatico collaborativo e dedicato fase di generazione iniziale dei dati e nella 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 preparazione delle librerie per il sequenziamento e generazione dei dati di sequenziamento

I candidati dovranno inoltre descrivere in dettaglio tutti i dati qualitativi e quantitativi che verranno inclusi nella relazione che descriverà la valutazione dei campioni e tutti i file che verranno generati in seguito al sequenziamento completo dei genomi 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:

- prevenzione della perdita/degradazione/scambio dei campioni dei lotti ricevuti
- prevenzione dell'accesso non autorizzato ai lotti conservati;
- sistemi per impedire l'accesso non autorizzato ai dati di sequenziamento;
- 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 prima della trasmissione a HT.

### 3.3. Tempi di consegna e processazione dei campioni

I candidati dovranno indicare nella loro relazione tecnica i tempi massimi di analisi per i campioni. I suddetti tempi non devono comunque superare i 75 giorni per quanto riguarda i campioni di single cells, mentre per i campioni di metiloma e genoma non devono comunque superare i 50 giorni.

### **3.4. 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 Project Manager indicato dal fornitore aggiudicatario per verificare e garantire un avanzamento soddisfacente del progetto.