PLIEGO DE PRESCRIPCIONES TÉCNICAS QUE HABRÁ DE REGIR LA LICITACIÓN, MEDIANTE PROCEDIMIENTO ABIERTO, PARA LA CONTRATACIÓN DE LOS SERVICIOS DE EXTRACCIÓN Y ANÁLISIS MOLECULAR DE MUESTRAS

1. OBJETO DEL CONTRATO

El objeto del contrato lo constituye la prestación de los servicios de extracción y análisis molecular de muestras para la ASOCIACIÓN BC3 BASQUE CENTRE FOR CLIMATE CHANGE – KLIMA ALDAKETA IKERGAI (en adelante, BC3), de conformidad a lo previsto en el Pliego de Cláusulas Administrativas Particulares, en su Carátula y en el presente Pliego de Prescripciones Técnicas.

Concretamente, se pretende la contratación del servicio de secuenciación de alto rendimiento (HTS, del inglés High Throughput Sequencing).

Para llevar a cabo la correcta ejecución de este proyecto, será necesario la realización de la extracción del ADN total y el ARN microbiano presentes en el intestino de especies de polinizadores silvestres, así como en muestras vegetales.

El objeto del presente contrato se limitará exclusivamente a la contratación de los servicios de extracción de ADN y RNA, así como la preparación de librerías y su posterior secuenciación de alto rendimiento, que deberá tener las características indicadas en el presente Pliego.

El Código CPV del contrato es el siguiente: 71620000-0 (Servicios de análisis).

2. CONDICIONES GENERALES DEL SERVICIO

1. La empresa adjudicataria deberá tener un Servicio Técnico de Atención al Cliente que resuelva en el menor tiempo posible cualquier duda que pueda surgir a los investigadores de manera previa al envío de muestras, durante el análisis de las muestras, así como una vez se hayan entregado los resultados. La empresa adjudicataria deberá dar una primera respuesta en un plazo inferior a 4 horas laborables (dentro del horario laboral de BC3, esto es: de lunes a viernes de 8:00 a 17:00 horas) a contar desde que haya recibido la consulta.

1. La estrategia de secuenciación a utilizar será la secuenciación de segunda generación basada en la secuenciación por tecnología de síntesis – detección por fluorescencia de nucleótido añadido durante la síntesis de la cadena complementaria – y de forma paralelizada y masiva. Será necesario el uso de equipos de secuenciación Illumina de gran capacidad.

2. Es necesario el uso de equipos con capacidad de secuenciación metagenómica por amplicones (e.g. 16S, ITS, etc.) y mediante *whole genome s*hotgun y con una Garantía de calidad en los datos de secuenciación generados: índice Q30 > 85%.

3. La contratación de hasta aproximadamente 1.200 o 2.400 Gigabases (Gb) por año podrá ser fraccionada en varias solicitudes del servicio, donde la unidad de referencia será la Gb secuenciada a 2x150 o 2x250.

4. En secuenciación metagenómica por amplicones, garantía de 150.000 lecturas PE250 por muestra.

5. Tras la finalización del servicio de secuenciación, el excedente de ADN de cada una de las muestras será entregado al BC3, el cual es propietario último de este tipo de muestra.

6. Será necesario que exista un representante de la empresa adjudicataria, que facilite la relación directa con la misma, así como, un equipo técnico bioinformático capaz de realizar análisis preliminares y dar soporte a los investigadores si fuese necesario. En caso de ser requerido por BC3, el representante de la empresa deberá poder personarse en las instalaciones de BC3 en un plazo máximo de 4 horas laborables (dentro del horario laboral de BC3) a contar desde que haya recibido el requerimiento.

7. En el envío de muestras deberá garantizarse la conservación de la inalterabilidad de las muestras, así como su estabilidad y calidad hasta el lugar de destinos para análisis manteniendo la cadena de frío. Las muestras deben permanecer congeladas en todo momento a una temperatura de entre -90º C y -70ºC para evitar la degradación y pérdida de las mismas. Las muestras se enviarán incluidas en hielo seco sin coste adicional.

3. CONTENIDO DE LA PRESTACIÓN DE LOS SERVICIOS

3.1. Extracciones de muestras ARN de intestino de polinizadores:

La empresa contratista deberá ser capaz de realizar la extracción de ARN total de manera eficiente y efectiva para su posterior secuenciación y análisis de metatranscriptoma.

La extracción de ARN se realizará homogeneizando la totalidad de la muestra de intestino de polinizadores suministrada por el contratante y utilizando métodos y protocolos estándar reconocidos en trabajos previos (kits comerciales de extracción u otros), con el fin de garantizar la integridad y la calidad de los datos obtenidos.

3.2. Extracción de ADN del intestino de polinizadores:

La extracción de ADN se realizará utilizando métodos eficientes y validados que permitan obtener ADN de alta calidad y pureza.

Es fundamental que la empresa pueda garantizar la integridad y la fiabilidad de los datos obtenidos, mediante el uso de técnicas y protocolos estandarizados y control de calidad riguroso.

3.3. Control de calidad de los procesos de extracción (ARN y ADN):

La empresa contratista deberá realizar un control de calidad de las extracciones de ARN y ADN mediante, al menos, dos de las siguientes técnicas: (i) electroforesis en gel de agarosa, (ii) espectrofotometría con sistema *Nanodrop (Thermo Fisher Scientific Inc)* o similar, (iii) método fluorométrico *Qubit (Thermo Fisher Scientific Inc)* o similar.

La integridad del ARN se determinará mediante el valor RIN o la ratio ARNr 28S/18S, y el grado de pureza del ARN, determinado por la ratio de absorbancia medida a 260/280 nm y 260/230 nm. Para valorar la integridad se usará la plataforma *TapeStation (Agilent Technologies)*. Todo el proceso deberá documentarse explícitamente y se realizará antes de la generación de las librerías.

El control de calidad garantizará la integridad y la pureza de los ácidos nucleicos extraídos, asegurando la validez de los datos obtenidos en las siguientes etapas del proceso.

3.4. Preparación de librerías y secuenciación de ARN (Metatranscriptómica):

La empresa contratista deberá preparar librerías para la secuenciación de ARN mediante la técnica shotgun.

Se requiere la preparación de librerías de ARNc de inserción de 350 pb, seguida de la secuenciación en modo paired-end (PE) 2x150. Se proporcionará un output de, al menos, 12 Gb de datos sin procesar por muestra.

Además, se espera que la empresa contratista realice un análisis bioinformático básico de los datos secuenciados, que incluya la limpieza, ensamblaje y anotación preliminar de las secuencias obtenidas.

3.5. Preparación de librerías y secuenciación de amplicones (Metabarcoding):

La empresa contratista deberá preparar librerías para la secuenciación de ADN mediante amplicones de las regiones V4 del gen 16S para bacterias, ITS para hongos y un fragmento de 60 pb especificado por el cliente para plantas.

La secuenciación se realizará en modo paired-end (PE) 2x250, garantizando, al menos, 150.000 lecturas.

3.6. Preparación de librerías y secuenciación de ADN (Metagenómica):

La empresa contratista deberá preparar librerías para la secuenciación de ADN mediante la técnica shotgun. La secuenciación se realizará en modo paired-end (PE) 2x150, y se espera obtener datos de alta calidad y cobertura para el análisis posterior. Se proporcionará un output de, al menos, 12 Gb de datos sin procesar por muestra

3.7. Envíos de muestras ADN:

La empresa contratista se encargará de coordinar el envío y transporte de las muestras desde el BC3 hasta sus instalaciones en condiciones óptimas de refrigeración. El envío se realizará mediante servicio urgente, garantizando la entrega en menos de 48 horas desde su salida del BC3. El envío de las muestras se realizará en dos tandas cada año, tras la coordinación por ambas partes.

3.8. Envíos de muestras ARN en hielo seco:

La empresa contratista será responsable de coordinar el envío y transporte de las muestras desde el BC3 hasta sus instalaciones, asegurando que las muestras se mantengan en perfectas condiciones de congelación a -80°C durante todo el proceso de transporte. Se requerirá el uso de envases adecuados y suficiente cantidad de hielo seco para mantener la cadena de frío sin interrupciones.

El envío se realizará mediante servicio urgente, garantizando la entrega en menos de 48 horas desde su salida del BC3. El envío de las muestras se realizará en dos tandas cada año, tras la coordinación por ambas partes.

3.9. Sobre el ARN y ADN sobrante de las muestras:

La empresa adjudicataria del contrato deberá enviar el ARN y ADN sobrante al laboratorio del BC3 donde fueron recogidas las muestras, en condiciones óptimas de conservación y mantenimiento, en un plazo máximo de 3 meses a contar desde la fecha de finalización del servicio.

La no devolución de las muestras de ARN y ADN sobrantes, en perfectas condiciones de preservación, dará lugar al inicio del proceso de penalizaciones. Por lo tanto, la empresa adjudicataria se responsabilizará del envío de los sobrantes de muestras, incluyendo todos los materiales y trámites necesarios, incluyendo los aduaneros.

Asimismo, la empresa adjudicataria deberá encargarse de gestionar y resolver los problemas que pudieran surgir durante el envío de los sobrantes de muestras, incluyendo, pero no limitado a, problemas en aduanas, aeropuertos si las muestras viajaran en avión, barreras logísticas o de cualquier tipo que pudieran surgir durante el traslado internacional o nacional de las mismas.

4. TRAMITACIÓN DEL SERVICIO

1. El contratista deberá entregar todos los resultados de cada solicitud de servicio de secuenciación en un tiempo de entrega máximo de 45 días hábiles tras la recepción de las muestras.
2. Los resultados deberán ser entregados a BC3 a través de un Servicio de Almacenamiento en la nube (ej. *Amazon Web Service*) al que los investigadores puedan tener acceso para la descarga de los datos a su propio servidor o bien ser depositados directamente vía FTP (del inglés *File Transfer Protocol*). El sistema de envío de los datos está incluido en los precios unitarios de licitación, no suponiendo un sobrecoste al cliente.
3. El contratista estará obligado a preservar una copia de seguridad de los datos generados durante un plazo de 15 días a contar de la fecha de recepción de los mismos por BC3.