# **OPIS PRZEDMIOTU ZAMÓWIENIA**

Nr Sprawy: DZ.272.859.2025

|  |  |
| --- | --- |
| **Sekcja** | **Opis** |
| Przedmiot zamówienia | Usługa wykonania profili transkryptomicznych metodą bulk  RNA-seq (300 próbek) oraz single-cell RNA-seq (min. 200 i max. 250 próbek) wraz z analizą bioinformatyczną i wsparciem publikacyjnym (opis poniżej w Wymaganiach ogólnych). |
| Cel usługi | Celem usługi jest kompleksowe przeprowadzenie analiz transkryptomicznych profili ekspresji genów limfocytów T gamma-delta pochodzących od różnych dawców i z hodowli komórkowych oraz komórek glejaka wielopostaciowego wykorzystywanych do oceny aktywności cytotoksycznej limfocytów T gamma-delta wobec tych komórek. W ramach usługi zostanie wykonana pełna analiza bioinformatyczna uzyskanych danych (bulk i scRNA-seq), obejmująca kontrolę jakości, mapowanie odczytów, analizę różnicowej ekspresji, klasteryzację i interpretację funkcjonalną, co pozwoli na przygotowanie wkładu do publikacji naukowych. Finalnie, opracowany kompleksowy zestaw danych i analiz umożliwi pogłębione zrozumienie mechanizmów molekularnych oraz różnic funkcjonalnych w populacjach limfocytów T gamma-delta, co stanowi podstawę do dalszych badań translacyjnych i opracowania nowych strategii immunoterapeutycznych wobec glejaka wielopostaciowego. |
| Materiał biologiczny | - Materiał do analizy:   * Jednojądrzaste komórki krwi obwodowej utrwalone za pomocą technologii Scale-Bio. * Hodowle komórkowe limfocytów T gamma-delta utrwalone za pomocą technologii Scale-Bio. * Hodowle komórkowe limfocytów T gamma-delta zabezpieczone w odczynniku Trizol |
| Wymagania dla usługi – scRNA-seq | - Wykonanie profili transkryptomicznych metodą single-cell  RNA-seq dla min. 10 000 komórek na próbkę.  - Średnia liczba odczytów na komórkę: 50 000.  - Analiza obejmuje: redukcję wymiarowości (np. UMAP), analizę różnicowej ekspresji, analizę liczebności populacji komórkowych, QC danych.  - Zastosowanie technologii sekwencjonowania umożliwiającej pracę z próbkami biologicznymi utrwalonymi za pomocą technologii ScaleBio (San Diego, California), opartej na metodzie Split&Pool i barcodingu komórkowym.  - Biblioteki muszą być kompatybilne z platformami sekwencjonowania krótkich odczytów Illumina (np. NovaSeq 6000 lub równoważna). |
| Wymagania dla usługi bulk RNA-seq | - Wykonanie profili transkryptomicznych metodą bulk RNA-seq  - Wykonanie bibliotek i sekwencjonowanie.  - Analiza obejmuje: różnicową ekspresję genów (wg grup wskazanych przez Zamawiającego), analizę ścieżek sygnałowych, wizualizacje (heatmapy, ścieżki sygnałowe), QC danych.  - Biblioteki muszą być kompatybilne z platformami sekwencjonowania krótkich odczytów Illumina (np. NovaSeq 6000 lub równoważna). |
| Wymagania ogólne | - Próbki przekazane do Wykonawcy nie mogą opuszczać terytorium Rzeczpospolitej Polskiej z uwagi na regulacje etyczne oraz zasady bezpieczeństwa danych biologicznych i osobowych.  - Doświadczenie w analizie próbek zabezpieczonych technologią ScaleBio potwierdzone wykonanymi usługami. - Zapewnienie serwisu analitycznego i doradztwa publikacyjnego w języku polskim i angielskim polegającego na:   * dostarczeniu wstępnie przetworzonych danych (np. pliki FASTQ po kontroli jakości, pliki wynikowe w formacie count matrix). * analizie różnicowej ekspresji genów (m.in. DESeq2, edgeR, limma lub inne uznane narzędzia). * analizie funkcjonalnej (np. GO, KEGG, GSEA) oraz integracji wyników z bazami danych biologicznych. * przygotowaniu wizualizacji danych: wykresy typu volcano plot, heatmapy, PCA, wykresy ścieżek/metabolizmów. * konsultacji interpretacyjnej – pomoc w biologicznej interpretacji uzyskanych wyników (min. 50 godzin). * pomocy w przygotowaniu części Metody (Materials and Methods) z dokładnym opisem „pipeline” bioinformatycznego. * opracowaniu wyników w formie tabel, rycin i suplementów zgodnych z wymaganiami czasopism naukowych. * doradztwie przy doborze odpowiednich testów statystycznych i ich prawidłowym opisie. * konsultacji przy redakcji części Wyniki i Dyskusja w odniesieniu do uzyskanych danych (w ramach wyżej wymienionych 50 godzin). * zapewnieniu, aby nazewnictwo genów, ścieżek i terminologii było zgodne z aktualnymi standardami międzynarodowymi. * formatowaniu rycin i tabel zgodnie z wytycznymi wybranego czasopisma. * możliwości przeprowadzenia spotkań online w celu omówienia wyników i ich prezentacji. |
| Podział na etapy | Etap I (zamówienie podstawowe) – Pilotaż scRNA-seq: przygotowanie bibliotek, sekwencjonowanie, analiza QC minimum 168 000 komórek (ok. 8-16 próbek).  Etap II (zamówienie podstawowe) – Bulk RNA-seq: przygotowanie bibliotek, sekwencjonowanie, analiza danych (300 próbek), w tym zapewnienie opisanego wyżej wsparcia w przygotowaniu publikacji.  Etap III (zamówienie opcjonalne) – scRNA-seq: przygotowanie bibliotek, sekwencjonowanie, analiza danych (minimalnie 184 – maksymalnie 242 próbek), w tym zapewnienie wsparcia w przygotowaniu publikacji. Niniejszy etap będzie realizowany w przypadku gdy z próbek z etapu I uzyskane będą satysfakcjonujące wyniki. Zamawiający podejmie decyzję o realizacji etapu w terminie 3 dni od otrzymania raportu dotyczącego jakości próbek z etapu I. |
| Termin realizacji | Całość usługi (Etap I + II, a w przypadku realizacji także Etap III) musi być zakończona do dnia 31.03.2026 r. Zamawiający przekaże Wykonawcy próbki do Etapu I i II w ciągu 7 dni od podpisania umowy. Wykonawca w ciągu 20 dni od przekazania próbek Wykonawcy dostarczy drogą elektroniczną Raport QC - raport weryfikujący jakość techniczną próbek dla Etapu I, którego akceptacja przez Zamawiającego będzie podstawą do wykonania analiz dla Etapu III (decyzja w ciągu 3 dni od otrzymania Raportu). W przypadku akceptacji Raportu QC przez Zamawiającego, Zamawiający w ciągu 7 dni od akceptacji Raportu QC dostarczy Wykonawcy próbki do Etapu III. |