

Zmiana opisu zapytania ofertowego:

Zapytanie ofertowe nr **ADN/NCN/1/2021** dotyczące wyłonienia wykonawcy na wykonanie analizy metagenomicznej próbek DNA w oparciu o masowe równoległe sekwencjonowanie **regionu V3-V4 genu 16S rRNA** umożliwiające identyfikację grup taksonomicznych zarówno Bacteria jak i Archea (300 próbek) z rozszerzoną analizą bioinformatyczną oraz **pełnych metagenomów** w podejściu typu shotgun (36 próbek).

Opis przedmiotu zamówienia:

Wykonanie analizy metagenomiczną próbek DNA w oparciu o masowe równoległe sekwencjonowanie:

A. regionu V3-V4 genu 16S rRNA umożliwiające identyfikację grup taksonomicznych zarówno Bacteria jak i Archea (300 próbek) z rozszerzoną analizą bioinformatyczną;

Szczegóły badania:

1. Przygotowane bibliotek NGS metodą dwustopniowego PCR
2. Sekwencjonowanie z wykorzystaniem urządzenia MiSeq firmy Illumina (w trybie sparowanych końców w dwóch odczytach po 300 zasad; spodziewana minimalna liczba par odczytów na próbkę to 50 000).
3. Podstawowa analiza bioinformatyczna: filtrowanie odczytów, klasyfikację do poziomu gatunku w oparciu o bazę danych sekwencji referencyjnych SILVA, tabele procentowego udziału poszczególnych bakterii w próbce.
4. Rozszerzona analiza bioinformatyczna: analiza różnorodności alfa: wyznaczenie parametrów *richness* (na podstawie observed OTUs, chaol index, ACE) oraz *diversity* (na podstawie Shannon index, Simpson index) dla próbek, wizualizacja w postaci wykresów; analiza różnorodności beta: wyznaczenie parametrów podobieństwa między próbkami (na podstawie bray-curtis similarity index, morisita-horn similarity index), konstrukcja drzew podobieństwa gatunkowego UPGMA, analiza głównych składowych (PCA) i analiza głównych współrzędnych (PcoA), konstrukcja drzew filogenetycznych dla bakterii, graficzne przedstawienie wyników (wykresy słupowe/kołowe), przedstawienie na jednym wykresie 2-3 grup eksperymentalnych.
5. Probki do badania będą dostarczane w partiach nie mniejszych niż 60 próbek.

B. pełnych metagenomów w podejściu typu shotgun (36 próbek).

Szczegóły badania

1. Probki DNA poddane będą mechanicznej fragmentacji przy użyciu energii akustycznej na urządzeniu Covaris 210x.
2. Biblioteki NGS zsekwencjonowane na aparacie NovaSeq6000 (Illumina) w trybie PE150 z założeniem uzyskania minimum 40 mln par odczytów na próbkę. Jakość odczytu Q30>85% dla 2x150bp.

3. Dane surowe przekazane w formacie fastq. Niezbędne udzielenie pomocy w załadowaniu danych i ustawieniu analizy z wykorzystaniem platformy MG-RAST oraz przeszkolenie w tym zakresie. Różnorodność taksonomiczna określana m.in. na podstawie baz: GreenGenes, Silva, ITS, RDR. Analiza funkcjonalna genów występujących w środowisku oparta o bazy: COG, KEGG, NOG.
4. Próbkki do badania dostarczone w jednej przesyłce.

Dodatkowe wymagania:

Czas realizacji do 3 miesięcy od momentu pozytywnego przejścia kontroli ilościowej przez wszystkie próbki.

Dane dotyczące próbek DNA dostarczonych do analizy:

Rodzaj próbki: DNA metagenomowe (gDNA)

DNA zawieszone w wodzie lub 10mM Tris pH 7

Jakość próbki: próbka niezdegradowana, bez kontaminacji RNA i białkami

Czystość próbki: $OD_{260}/_{280} = 1,8 - 2,0$

Objętość próbki: $\geq 20 \mu l$

Ilość próbki: $\geq 50 \text{ ng}$ – metagenomika 16S

$\geq 500 \text{ ng}$ – metagenomika typu shotgun

Stężenie próbki: $\geq 5-10 \text{ ng}/\mu l$ - metagenomika 16S

$\geq 5 \text{ ng}/\mu l$ – metagenomika typu shotgun

Termin składania ofert: 19 maja 2021 roku godzina: 15:00