



Università degli Studi Di Trento

www.unitn.it – PEC: ateneo@pec.unitn.it

AVVISO DI CONSULTAZIONE PRELIMINARE DI MERCATO

Sistema di SMP

Avviso di consultazione preliminare di mercato finalizzata alla verifica dell'esistenza di soluzioni innovative, anche tecnologicamente alternative, a quelle individuate da UniTrento che possano soddisfare le esigenze di ricerca del Dipartimento CIBIO dell'Ateneo di Trento, come sotto riportate.

Premessa

Il Dipartimento CIBIO dell'Università degli Studi di Trento (di seguito CIBIO) intende procedere all'acquisto di un sistema per il Sequenziamento Massivo e Parallelo (SMP) di acidi nucleici. Il nuovo sistema di SMP sarà collocato all'interno della *Facility di Next Generation Sequencing* (NGS-CF) per sostituire il sistema HiSeq2500 (Illumina) acquisito nel 2012, e per integrare gli altri sistemi di sequenziamento acquisiti tra il 2013 ed il 2017 e tuttora attivi: MiSeq (Illumina), Ion Torrent PGM (ThermoFisher Scientific) e Minion (Oxford Nanopore Technologies).

NGS-CF è una piattaforma tecnologica a supporto delle ricerche svolte al CIBIO, allestita ed attivata tra il 2011 ed il 2012, con personale, strumentazioni e spazi esclusivamente dedicati alla preparazione ed al sequenziamento di campioni di acidi nucleici, mediante le tecnologie di sequenziamento di ultima generazione per studi di Genomica, Trascrittomica, Metagenomica ed Epigenomica. Inoltre, NGS-CF supporta i ricercatori nella didattica, nella pianificazione sperimentale.

Nel corso dei 6 anni trascorsi dall'acquisizione del primo sistema di SMP e dall'attivazione della facility, parallelamente allo sviluppo del CIBIO, le esigenze di sequenziamento e le applicazioni richieste dagli utenti della facility si sono diversificate e sono gradualmente aumentate. Il vantaggio di avere a disposizione, nella propria struttura di appartenenza, una piattaforma



UNIONE EUROPEA
Fondo Europeo di Sviluppo Regionale



Investiamo nel vostro futuro



tecnologica dedicata, ha permesso a molti ricercatori afferenti ad UniTrento di gestire o svolgere collaborazioni e progetti dove l'attività sperimentale legata al sequenziamento di acidi nucleici rappresenta una parte rilevante dell'attività sperimentale generale.

Queste circostanze favorevoli hanno portato al moltiplicarsi delle richieste di sequenziamento ed al verificarsi di code di utenti per l'accesso ai servizi di sequenziamento malgrado l'incremento del personale della facility.

L'incremento del personale, infatti, non ha potuto compensare i limiti intrinseci della tecnologia di sequenziamento della piattaforma di SMP a maggiore produttività attualmente in uso. Poiché le sessioni di sequenziamento ad alta produttività necessitano dell'utilizzo continuativo dello strumento per una durata di 11-12 giorni e le richieste di questo tipo di sequenziamento sono aumentate nell'ultimo anno, perfino la programmazione delle sessioni di manutenzione ordinaria è divenuta difficoltosa.

È da evidenziare anche un ulteriore aspetto relativo ai sequenziamenti ad alta produttività: le richieste di quantità di dati di sequenziamento da parte dei nostri ricercatori, in particolare di coloro che operano nelle aree del CIBIO di Microbiologia, Metagenomica e di Genomica e Biologia del Cancro, sono aumentate.

La conseguenza di ciò è che una sessione di sequenziamento deve essere duplicata per produrre una quantità di dati sufficiente. Naturalmente, anche questo evento incide sulla dilatazione dei tempi d'attesa oltreché sui costi per i reagenti di sequenziamento. I nuovi reagenti di sequenziamento disponibili sul mercato sono più economici, anche fino al 50%, rispetto ai reagenti impiegati con il sistema di SMP in uso, ma sono ad esso incompatibili.

Al fine di svolgere studi di Metagenomica, l'area di Microbiologia necessita di sequenziamenti su DNA genomico di partenza che può rivelarsi notevolmente frammentato, con alta produzione di dati ad alti valori di accuratezza. Il sistema di SMP attualmente in uso è in grado di sequenziare DNA genomico molto frammentato con sufficiente grado di accuratezza, ma il tempo con cui svolge questi sequenziamenti non è più adeguato allo svolgimento dei progetti. Al momento, infatti, se sullo strumento presente in Ateneo venissero sequenziati esclusivamente esperimenti di Metagenomica, tralasciando tutte le altre richieste dei ricercatori, non riusciremmo a condurre più di 3300 analisi in un anno, mentre le necessità per i progetti di ricerca, nei prossimi anni, sono per



numerosità ben superiori. In base ai progetti di ricerca attualmente vinti dai ricercatori di quest'area del CIBIO, UniTrento ha la necessità di dotarsi di uno strumento con una produttività per flowcell che sia almeno triplicata rispetto a quella dello strumento più produttivo attualmente presente in Facility (HiSeq2500).

Nell'area di Genomica e Biologia del Cancro vi sono diversi studi che richiedono sequenziamenti con precise caratteristiche per essere realizzati. Tra i più importanti, finanziata sia a livello locale che internazionale, vi è l'iniziativa sulla Medicina di Precisione: un'area della medicina che permette di applicare una terapia mirata a seconda delle specifiche alterazioni genomiche responsabili dello status patologico. La biopsia liquida è una importante tecnica della Medicina di Precisione applicabile nel campo dei tumori. Un prelievo di sangue permette di isolare sia il DNA che l'RNA, derivante da cellule tumorali, o da vescicole extracellulari che circolano nel sangue. Il loro sequenziamento rapido consente di avere informazioni sulla evoluzione del tumore o sulla risposta del tumore alla somministrazione di specifiche terapie evitando indagini più invasive. Questo tipo di procedura permette di ripetere le analisi anche a distanza di poche settimane, per seguire in modo puntuale e rapido il decorso della malattia o la reazione dei pazienti alla terapia. Sullo strumento in possesso dell'Ateneo, il sequenziamento necessario per ottenere risultati affidabili da una biopsia liquida dura circa 12 giorni, un tempo troppo lungo per analisi in cui la risposta all'equipe di ricerca clinica deve essere data nell'arco di pochi giorni. Da queste tempistiche ristrette deriva la necessità di uno strumento in grado di velocizzare la consegna, ai ricercatori dell'Ateneo, dei dati di sequenziamento fino ad arrivare ad un massimo di tempo di corsa di due giorni.

L'analisi di sequenziamento del DNA circolante è sottoposta a vincoli rigidi, poiché questo stesso estratto dal sangue è lungo circa 175 coppie di nucleotidi, quindi è estremamente frammentato. In secondo luogo, il DNA tumorale è mescolato con il DNA proveniente da tessuti normali e rappresenta, perciò, solo una frazione del DNA circolante tumorale. Considerato che l'obiettivo di questa analisi è la rilevazione della presenza di mutazioni del DNA tumorale che potrebbero essere a bassa percentuale perfino nel tumore, per sopperire all'effetto di diluizione che subisce il DNA tumorale quando si mescola con il DNA normale nella circolazione sanguigna, è necessario sequenziare il DNA ad una profondità tale per cui ogni posizione del DNA frammentato sia





“vista” almeno 1.000 volte con letture ad altissima qualità. Inoltre, l’analisi del DNA circolante deve essere accoppiata e comparata all’analisi del DNA genomico di cellule normali del medesimo soggetto ad una profondità che permetta la rilevazione di frammenti almeno 100-200 volte. In base ai progetti di ricerca applicata allo sviluppo ed utilizzo della biopsia liquida, finanziati presso il CIBIO nei prossimi anni, possiamo stimare la necessità di flowcell con una produzione di milioni di letture di sequenza che sia almeno triplicata rispetto a quella dello strumento attualmente in uso (HiSeq2500).

Per rimanere nel campo degli studi che prevedono l’utilizzo della biopsia liquida, anche l’analisi degli RNA presenti nel plasma in bassissime quantità rappresenta un settore di notevole interesse e centrale nella ricerca condotta al CIBIO. Gli RNA, sia liberi nel plasma che all’interno delle vescicole extracellulari, possono essere suddivisi in due popolazioni: i piccoli RNA (principalmente miRNA) e gli RNA codificanti. Per questi progetti vi è quindi la necessità di un nuovo sistema di SMP ad elevato grado di flessibilità nel supportare applicazioni in grado di analizzare il più ampio spettro di molecole di acidi nucleici, dalle più piccole, come i miRNA, di circa 20 nucleotidi o i cfDNA di 170 nucleotidi alle molecole più lunghe anche quando presenti in concentrazioni appena rilevabili. Occorre quindi un sistema aperto, flessibile ed in grado di sequenziare librerie costruite anche con reagenti prodotti da altri fornitori.

È essenziale che il nuovo sistema di SMP sia in grado di coniugare le esigenze profondamente differenti e divergenti dei vari progetti attivi, o di prossima attivazione, al CIBIO. Da un lato, infatti, la NGS-CF ha l’esigenza di effettuare sessioni di sequenziamento processando simultaneamente un alto numero di campioni con una elevata produzione di dati ad alta accuratezza. Dall’altro lato, il nuovo sistema di SMP dovrà garantire anche la necessità di svolgere numerose sessioni di sequenziamento ad alto grado di accuratezza ma con limitata numerosità di campioni e produzione di dati; in alcuni progetti, infatti, non è possibile disporre di tutti i campioni da analizzare contemporaneamente in un’unica fase. Per esaudire le esigenze dei diversi progetti il nuovo sistema di SMP dovrà quindi presentare anche un alto grado di flessibilità e scalabilità per quanto riguarda la capacità sia di produzione di dati che di gestione del multiplexing dei campioni.





Descrizione del Bisogno

In base alle motivazioni sopraelencate, il bisogno da soddisfare consiste nell'acquisizione di un nuovo sistema di SMP in grado di svolgere tutti i differenti tipi di applicazioni e di sequenziamenti necessari all'attività di ricerca del CIBIO rispettando criteri di efficienza e di economicità. Il nuovo sistema di SMP dovrà effettuare le analisi rapidamente, con una maggiore capacità di produzione di dati per sessione e con un minore costo di reagenti di sequenziamento per unità di quantità di dati prodotta rispetto ai sistemi di SMP attualmente operativi.

Il sistema, oltre ad essere migliorativo rispetto a quello attualmente presente all'interno della Facility, dovrà essere composto da un singolo Sistema di sequenziamento massivo e parallelo. Quest'ultima necessità è determinata dalla scarsità della quantità del campione da analizzare in molte delle applicazioni d'interesse. Ciò impedisce di poter analizzare il medesimo campione in sessioni simultanee differenti a minore produzione di dati, permettendo, come unica possibilità, l'analisi del campione in un'unica sessione a produzione di dati elevata.

In secondo luogo, considerato che il numero di operatori della facility è limitato, non è possibile gestire duplicati o replicati di strumentazioni. Infine, lo spazio disponibile nei laboratori della NGS-CF non permette di ospitare più di un altro singolo strumento.

L'apparecchiatura dovrà essere nuova di fabbrica, non ricondizionata, dovrà essere possibile effettuare sia la consegna che l'installazione entro la fine del 2019 e non sono di interesse per l'Ateneo service di sequenziamento in outsourcing come alternativa alla fornitura.

Tale sistema dovrà supportare tutte le seguenti applicazioni del Sequenziamento Massivo e Parallelo necessarie allo svolgimento dell'attività di ricerca del CIBIO e dell'Ateneo di Trento, fino alla fase di elaborazione primaria dei dati:

- Sequenziamento *de novo* di genomi;
- Re-sequenziamento di genomi;
- Sequenziamento ad alta profondità dell'esoma;





- Sequenziamento del DNA circolante normale e tumorale per biopsia liquida;
- Sequenziamento del DNA dopo immunoprecipitazione della cromatina (ChIP seq);
- Sequenziamento del trascrittoma (Total RNA and mRNA seq);
- Sequenziamento dei piccoli RNA e dei miRNA (Small RNA seq);
- Sequenziamento degli RNA presenti nelle vescicole circolanti nel plasma;
- Sequenziamento per analisi Metagenomica;
- Sequenziamento per analisi Metatrascrittomica.

Soluzioni Tecniche identificate da UniTrento:

L'Università degli Studi di Trento, per soddisfare le necessità dei progetti di ricerca del CIBIO, ha identificato le seguenti soluzioni tecniche per il sistema di SMP di cui dotarsi. Chiaramente, le soluzioni tecniche relative alla “Efficienza ed accuratezza del sistema” (Par. a) devono essere considerate in blocco perché sono interdipendenti: il mancato raggiungimento di un valore in uno dei 4 punti si rifletterebbe in un cambiamento delle entità numeriche degli altri punti.

a. Efficienza ed accuratezza del sistema:

1. Un sistema in grado di produrre almeno 1500 Gigabasi di sequenza utilizzabili in una singola corsa di una singola flowcell;
2. Un sistema in grado di produrre almeno 40 Gigabasi di dati in 1h;
3. Un sistema in grado di produrre almeno 5 miliardi di reads per sessione per singola flowcell;
4. Un sistema in grado di garantire che almeno il 70% delle basi di reads con lunghezza di almeno 100 basi, abbia una accuratezza nella identificazione della base uguale/maggiore del 99.9%.

b. Flessibilità del sistema:

5. Un sistema in grado di produrre “reads” con una lunghezza di almeno 100 basi single read;
6. La presenza di almeno 2 flowcell indipendenti;



7. Che il sistema garantisca la possibilità di “multiplexare” almeno 96 campioni per ogni flowcell o per ogni eventuale settore indipendente della flowcell.

c. Usabilità del sistema

8. Un sistema aperto in grado di sequenziare librerie costruite anche con reagenti prodotti da altri fornitori.
9. I reagenti di sequenziamento devono avere una scadenza non inferiore ad almeno 6 settimane a partire dal momento della consegna.
10. Un sistema che sia completo dell'apparecchiatura per l'acquisizione e l'elaborazione primaria dei dati.

Invio documentazione

Si richiede ad eventuali operatori economici che dispongano di soluzioni innovative, anche tecnologicamente alternative, di presentare adeguata documentazione tecnico scientifica e di relazionare dettagliatamente in merito all'apparecchiatura scientifica avente le caratteristiche indicate ai paragrafi precedenti entro e non oltre le ore **12:00 del giorno lunedì 8 aprile 2019 al seguente indirizzo PEC (ateneo@pec.unitn.it)** riportando:

- nell'oggetto della PEC la dicitura: “Consultazione preliminare Sistema di SMP”;
- i dati completi del mittente: denominazione – indirizzo PEC e persona di riferimento;
- tutta la documentazione dovrà essere corredata da idonea dichiarazione che evidenzia le parti coperte da segreto commerciale e/o privativa industriale.

Eventuali richieste di chiarimento possono essere inviate via PEC (ateneo@pec.unitn.it) al Responsabile del procedimento prof. Alessandro Quattrone.

La presente consultazione preliminare di mercato avviene ai sensi dell'art. 8 della Legge della Provincia Autonoma di Trento 9 marzo 2016 n. 2, pertanto le proposte o le osservazioni potranno essere utilizzate da UniTrento nella pianificazione e nello svolgimento della procedura di appalto a condizione che non abbiano l'effetto di falsare la concorrenza e non comportino la violazione dei principi di non discriminazione e trasparenza.

La partecipazione alla consultazione non costituisce condizione di accesso alla successiva procedura e non potrà costituire in alcun modo pretesa a risarcimento o indennizzo.



UniTrento individua le seguenti misure per garantire che la concorrenza non sia falsata dalla partecipazione di un operatore economico alla presente consultazione preliminare di mercato nella successiva procedura di gara:

- saranno fissati dei termini adeguati per la presentazione delle offerte;
- potranno essere trasmesse agli altri candidati e offerenti le informazioni pertinenti scambiate nel quadro della partecipazione del candidato o offerente alla preparazione della procedura o ottenute a seguito di tale partecipazione.

Data del presente avviso: Trento, 14 marzo 2019.

Il responsabile del procedimento

prof. Alessandro Quattrone