**GENOM ÇALIŞMALARI İHALESİ TEKNİK ŞARTNAMESİ**

1. Genom Çalışmalarıİş paketi içinde gerçekleştirilecek faaliyetler, iş bu teknik şartname içerisinde ayrı başlıklar altında kalemler halinde hazırlanmıştır.
2. Satın alınacak hizmetler için firma, satın alım tarihindeki döviz kurunu dikkate alarak, projede bahsi geçen yeni nesil dizileme, Sanger dizileme ve SNP array tutarlarına karşılık gelen miktarda kredi sağlamalı ve alınan hizmete göre bu kredi kullanıcı tercihine bağlı olarak proje süresince kullanılabilir olmalıdır.
3. Kullanıcı tarafından iletilecek çalışma türüne göre, önceden belirlenmiş olan çalışmaya özgü kredi miktarı hesaptan düşürülmelidir.
4. Proje sürecinde gerçekleşen teknolojik gelişmelere bağlı hizmet birim fiyatlarındaki olası düşüş kredi kullanımına yansıtılmalıdır.
5. Teklif verecek firmanın aşağıdaki tüm kalemlere tek bir merkezden hizmet sunuyor olması gerekmektedir (Sanger sekanslama ve SNP analizi dahil). İhale konusu hizmet alımlarının tamamı veya bir kısmı alt yüklenicilere devredilemez.

**6.3. Tüm Genom/Ekzom/RNA dizileme Çalışmaları Hizmeti Teknik Şartnamesi**

1. Verilecek olan hizmet kapsamında yeni nesil dizileme yöntemi kullanılarak insan biyolojik materyallerinden kısa ve/veya uzun okumalı tüm genom dizileme, tüm ekzom dizileme, RNA dizileme işlemleri gerçekleştirilecektir.
2. Verilecek olan kısa okumalı dizileme hizmeti, dizileme bütçelerini ulaşılabilir düzeye indirgemiş olan Illumina platformu ile gerçekleştirilmelidir.
3. Araştırmacılar firmadan tüm genom, tüm ekzom ya da RNA dizileme talebi oluşturduğunda, firma tüm genom ve tüm ekzom dizilemeler için genomik DNA; RNA dizileme işlemleri için ise total RNA ya da cDNA alarak yeni nesil dizileme tekniği ile istenilen işlemi gerçekleştirecektir.
4. RNA dizileme çalışmaları sırasında transfer için gerekli olan ve RNA’nın stabil şekilde korunmasına olanak veren tüplerin hizmet verecek firma tarafından sağlanması gerekmektedir.
5. RNA dizileme hizmetinde örnek başı standart okuma sayısı ortalama >50 milyon olmalıdır.
6. Tüm genom dizileme için 150 baz çifti okuma için insan genomu için yaklaşık 30X’e karşılık gelen yaklaşık 110Gb paired-end toplam okuma alınabilmelidir
7. Ekzom dizileme için kalite standartı en az 75X derinlik olmalıdır
8. Tüm genom, tüm ekzom ve RNA dizilemelere ait okumaların en az >90% Q30 kalitesinde olmalıdır.
9. Tüm ekzom dizilemede toplam kapsama alanı içine 3’UTR ve 5’UTR bölgeleri, ekzon-intron bağlantı bölgeleri ve COSMIC veritabanından elde edilen hedef bölgeler dahil olmalıdır.
10. Sunulan hizmet kapsamında DNA dizileme için sonuç dataları FASTQ formatında, her fastq dosyası için ayrı ayrı oluşturulan MD5 uzantılı dosyalar ile birlikte verilmelidir. MD5, yaygın olarak kullanılan bir kriptografik özet fonksiyonudur. Girilen verinin boyutundan bağımsız olarak, 128-bit özet değeri üretme özelliğindedir.
11. Firma tüm genom, tüm ekzom ve RNA dizileme ile ilgili standart analiz hizmetlerini (GATK best practice guideline) ücretsiz olarak sağlamalı; gerektiğinde ileri analiz hizmeti gerçekleştirecek platforma sahip olmalıdır.
12. Firma örnek sayısından bağımsız olarak  nakliye ile ilgili masrafları karşılamalıdır.
13. Firma her örnek gönderimi için 30 gün içerisinde hizmet işini yerine getirebilmeli ve kalite kontrol sonuçlarını bir teknik rapor şeklinde sunabilmelidir. Yukarıda belirtilen kalite kontrol kriterlerinin dışında kalan örnekler ücretsiz olarak tekrar edilmelidir.
14. Tüm genom analizinin proje araştırmacıları tarafından yetersiz bulunduğu durumlarda uzun okumalı dizileme yapılabilmelidir.
15. 1 Dizileme öncesi hazırlık aşamasında genomik DNA, SMRTbell Express Template Prep Kit 2.0 kullanılarak HiFi dizilemeye hazırlanmalıdır.
    1. Tüm kalite kontrol işlemleri, kütüphane hazırlığı ve dizileme işlemlerinden yüklenici firma sorumludur ve fiyata dahildir.
    2. Eş zamanlı tek molekül dizileme (SMRT) ile 4 milyona yakın genom okuması yapılabilmektedir ve her okuma uzunluğu ortalama 15-20 kb büyüklüğündedir. Sorumlu firmanın minimum bu düzeyde okuma yapan dizileme cihazıyla çalışması gerekmektedir.
    3. Dizileme işlemi, de novo assembly analizlerinin başarılı yürütülmesi için Sürekli Uzun Okuma (CLR:Continuous Long Reads) modunda yürütülmelidir.
    4. Bu platformlar arasında özellikle Sequel II sistemi (SMRT Cells 8M) kullanılarak yüksek doğrulukta genom okuması en az 100-120X derinlikte tamamlanmalıdır.

**6.4 Sanger Dizileme Hizmeti Teknik Şartnamesi**

1. Sanger Dizileme Analizi ile ilgili verilecek tekliflerde mutlaka okuma uzunluğu, saflaştırma ve teslim süresi belirtilmelidir.
2. Dizileme reaksiyonu tek yönlü olmalıdır
3. PCR sonrası saflaştırma işlemi ücrete dahil olmalıdır
4. Sonuçlar örnek teslimi sonrası en geç 5 iş günü içerisinde sağlanmalıdır
5. Örnek sayısından bağımsız olarak kargo ücreti alınmamalıdır ve tüm kargo süreçleri hizmet sağlayıcı tarafından düzenlenmelidir.
6. İlk dizileme sonucu analiz için uygun değilse (kirli okumalar vb) gelen sonuçlar için bir tekrar hakkı sağlanmalıdır
7. Dizileme hizmeti internet üzerinden ulaşılabilir ve sonuçlar indirilebilir olmalıdır.
8. Farklı yazılımlarla analiz edilebilecek formatta veri sağlanmalıdır.
9. Gerektiğinde isteğe bağlı primer sentezleyebilmeli ve dizileme işlemi gerçekleştirebilmelidir.
10. Dizilenen örnekler 3 ay süre ile +4’de ve verileri de 3 ay süre ile veri bankasında saklanmalıdır.
11. Dizilenen bölge tek yönde en az 800bp uzunluğunda temiz olarak okunabilmelidir.
12. DNA örnekleri  (PCR  ürünleri vb), primerler ile birlikte DNA dizi analizini yapacak firmaya gönderilecektir.
13. Dizileme analizini yapacak firma universal primerlere ücretsiz olarak sağlamalıdır.

**6.5 SNP array Hizmeti Teknik Şartnamesi**

1. SNP genotipleme hizmeti mikroarray tekniği ile gerçekleştirilmelidir.
2. Tek bir mikroarray, kopya sayısı, kontrol markerlarını da kapsayan en az 300000 prob içermelidir.
3. Tüm genom kapsamında kopya sayısı tarama yapılabilmelidir.
4. Mikroarray içerisinde en az 25 mer’lik oligonükleotidler içeren problar bulunup tüm genom boyunca subtelomerik ve perisentromerik bölgeler dâhil delesyon ve amplifikasyon insersiyon sendromları, tam dengeli olmayan translokasyonlar, UPD, LOH, ebeveyn etkisi ve mozaisizm tespit edilebilmelidir.
5. Sonuçlar, ham veri ile birlikte SNP, dengeli ve dengesiz yapısal varyantlar, kopya sayısı değişikliği analizi (CNV) ve gerekli görüldüğünde ek analizleri yapılmış şekilde teslim edilmelidir.
6. Mikroarray tabanlı genotipleme hizmeti kapsamında aşağıdaki minimum özelliklere sahip mikroarray çipi kullanılmalıdır.
   1. Tek bir çip ile 24 örneğin analizi tek seferde analizi gerçekleştirilebilmelidir.
   2. 200 ng DNA ile çalışabilmelidir.
   3. Hedeflenen bölgeler ve marker’ların seçiminde ACMG, ADME, ClinVar, CPIC, PharmaGKB veritabanı ve kılavuzlarından yararlanılmış olmalıdır.
7. Numune transfer masrafları hizmet sağlayıcı firma tarafından karşılanmalıdır.
8. Sonuçların teslim süresi, numunelerin gönderimini takiben en fazla 3 hafta olmalıdır.

**Ön görülen hizmet adetleri**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Sıra No** | **Mal/Hizmet Kaleminin Adı ve Kısa Açıklaması** | **Miktarı** | **Ölçü Birimi** |
| **1** | 6.3 Genom çalışmaları – Tüm genom Dizileme Hizmeti | 30 | Adet |
| **2** | 6.3 Genom çalışmaları – Ekzom Dizileme Hizmeti | 190 | Adet |
| **3** | 6.3 Genom çalışmaları – RNA Dizileme Hizmeti | 80 | Adet |
| **4** | 6.4 Sanger Dizileme Hizmeti | 2.000 | Adet |
| **5** | 6.5 SNP array Hizmeti | 96 | Adet |