

PLIEGO DE PRESCRIPCIONES TÉCNICAS PARA LA CONTRATACION DEL SERVICIO DE REALIZACION DE ANALITICAS DE SECUENCIACION MASIVA PARA EL PROYECTO DE INVESTIGACION MIRROR (EXPEDIENTE FIBHGM PA 02/2016)

1. OBJETO DE LA CONTRATACION

El objeto del presente procedimiento es la contratación, por parte de la Fundación para la Investigación Biomédica del Hospital Gregorio Marañón (FIBHGM), del **servicio de realización de analíticas de secuenciación masiva para el proyecto de investigación "Characterization and comparison of drugable mutations in primary tumors, metastatic tissue, circulating tumor cells and cell-free circulating DNA in metastatic breast cancer patients (proyecto MIRROR)"**, cuyo Investigador Principal es el Dr. Miguel Martín Jiménez, del Servicio de Oncología Médica del Hospital Gregorio Marañón (EXPTE. FIBHGM PA 02/2016).

Se contratará la realización de analíticas de secuenciación masiva para las siguientes muestras:

- 80 muestras de biopsia sólida
- 40 muestras de biopsia líquida (ADN tumoral circulante, ADNtc)
- 40 muestras de biopsia líquida (ADN genómico procedente de célula tumoral circulante, CTC)
- 160 confirmaciones de secuenciación

La finalidad de esta adquisición en el marco del proyecto de investigación de referencia es la siguiente: estudiar la discordancia entre alteraciones genómicas tumorales primarias de pacientes con cáncer de mama y las alteraciones genómicas tumorales metastásicas que aparecieron en el curso clínico de la enfermedad en muestras de biopsia sólida y biopsia líquida (ADN tumoral circulante y ADN genómico procedente de célula tumoral circulante). Las muestras a analizar corresponderán a pacientes participantes en el mencionado proyecto de investigación.

2. DESCRIPCION DEL SERVICIO A CONTRATAR

Se contratará la realización de análisis inicial de genes empleando plataforma de ultrasecuenciación *next generation sequencing por tecnología de semiconductores*, desde ahora NGS. Para ello:

- Se realizará un estudio de secuenciación de los genes especificados más adelante empleando una plataforma de NGS para 80 muestras de biopsia sólida y 80 muestras de biopsia líquida (40 muestras de ADN tumoral circulante y 40 muestras de ADN genómico procedente de célula tumoral circulante). Para poder llevar a cabo la secuenciación de los genes en las muestras de ADN genómico procedente de célula tumoral circulante, será necesario poner a punto la metodología de extracción y su validación estableciendo unos estándares de calidad y cantidad adecuada de ADN tumoral, que aseguren los parámetros de sensibilidad y especificidad de la técnica de detección de mutaciones utilizada.
- Se realizará un análisis bioinformático de las variables encontradas con una herramienta informática validada que emita un informe de mutaciones obtenidas con un valor que permita ordenarlas de mayor a menor impacto basado en el efecto de la mutación, localización, función, y frecuencia alélica.

- Se incluirá la secuenciación directa para comprobación de las variables encontradas con relevancia significativa que por análisis estadístico revele una firma mutacional.

ESPECIFICACIONES TÉCNICAS DEL SERVICIO

Las actividades requeridas para la realización del servicio a contratar serán las siguientes:

1.-Se realizará la secuenciación masiva mediante una plataforma de NGS basada en tecnología de semiconducción de **49 genes**:

Panel de genes

<i>MIRROR - Panel de Genes seleccionados v150605</i>				
<i>AFF2</i>	<i>CDH1</i>	<i>FOXA1</i>	<i>NCOR1</i>	<i>RB1</i>
<i>AKT1</i>	<i>CDH5</i>	<i>GATA3</i>	<i>NF1</i>	<i>RUNX1</i>
<i>AKT2</i>	<i>CDKN2A</i>	<i>GINS2</i>	<i>PEMT</i>	<i>SF3B1</i>
<i>ARAF</i>	<i>CDKN1B</i>	<i>HERC1</i>	<i>PGCP</i>	<i>TBX3</i>
<i>BRAF</i>	<i>CDKN2B</i>	<i>HRAS</i>	<i>PIK3CA</i>	<i>TBX4</i>
<i>BRCA1</i>	<i>CTCF</i>	<i>KRAS</i>	<i>PIK3R1</i>	<i>TBX5</i>
<i>BRCA2</i>	<i>CTNNA1</i>	<i>LRP1B</i>	<i>PTEN</i>	<i>TP53</i>
<i>CBFB</i>	<i>EGFR</i>	<i>MAP2K4</i>	<i>PTPN14</i>	<i>WT1</i>
<i>CCND1</i>	<i>ERBB2</i>	<i>MAP3K1</i>	<i>PTPN22</i>	<i>ESR1</i>
<i>CCND3</i>	<i>FBXW7</i>	<i>MLL3</i>	<i>PTPRD</i>	

Nota: Se permitirá incluir hasta 4 genes más, o sustituir algún gen de los propuestos por otro que sea de más interés para el proyecto, sin costes añadidos y siempre y cuando sea antes del diseño del panel.

2.-El servicio incluirá la extracción de ADN genómico a partir de muestras parafinadas y a partir de célula tumoral circulante previa optimización. Se incluirá también la extracción de ADN libre circulante a partir de 2 ml de plasma.

3.-Deberá partirse de ADN genómico o ADN libre circulante como producto inicial y utilizar el sistema que contempla la construcción de la librería de genes específicos o regiones de interés basado en PCR multiplex que permita más de 6.000 parejas de primers en un solo tubo y que requiera un máximo de 10 ng de ADN de muestra de partida. Permitirá trabajar con muestras de FFPE y biopsia líquida utilizando la NGS por semiconductores, con capacidad de leer fragmentos entre 140-400 pb pares de bases en un solo fragmento.



La longitud de los fragmentos generados debe ser de 140 pares de bases.

En las muestras procedentes de parafina se debe realizar el ensayo con una profundidad media superior a 5000x para garantizar que más del 95% de los amplicones generados tengan una profundidad mínima observada de 500x.

En las muestras de ADN libre circulante procedente de las muestras de sangre se debe realizar el ensayo con una profundidad media de 15000x, de tal forma que más del 95% de los amplicones generados tengan una profundidad mínima observada de 500x.

En las muestras de ADN genómico procedente de célula tumoral circulante se debe realizar el ensayo con una profundidad media de 15000x, de tal forma que más del 95% de los amplicones generados tengan una profundidad mínima observada de 500x. Este ensayo necesitará de un proceso de optimización de la extracción y verificación del buen funcionamiento de dicho proceso.

Las variantes genómicas encontradas, que por su análisis estadístico de forma significativa configuren una nueva firma genética, serán confirmadas mediante secuenciación dirigida al exón de interés por tecnología de secuenciación.

ENTREGABLES

Cada muestra debe ir acompañada de un informe que recoja:

- Detalles del ensayo en relación a controles de calidad, que muestren el correcto funcionamiento de cada paso del mismo.
- Variantes genómicas encontradas ordenadas de mayor a menor impacto clínico.

Una vez todas las muestras analizadas hayan sido valoradas, si surge una firma genética con variantes genómicas, se emitirá un informe que recoja estos análisis y su confirmación por secuenciación dirigida a cada exón de interés.

Se proporcionará también la base de datos crudos.

3. CALIDAD DE LA ENTIDAD ADJUDICATARIA

La empresa adjudicataria deberá contar con técnicas y procedimientos relacionados con el análisis con técnicas NGS de semiconducción y establecimiento de controles de calidad de las mismas, que deberá acreditarse documentalmente.

4. COMPROMISOS DEL CONTRATISTA

El contratista se compromete a la correcta y adecuada realización del servicio con la calidad necesaria y con la incorporación de todas aquellas medidas técnicas que puedan ser precisas para un servicio de esta naturaleza. El contratista asumirá los costes de la recogida de las muestras para la realización de las determinaciones así como de su devolución una vez hayan concluido los análisis.

5. PLAZO DE EJECUCION

El plazo máximo para la realización del servicio será de **6 meses**, con el siguiente calendario de plazos temporales:

- Resultados de secuenciación de las muestras de biopsia sólida y ADN tumoral circulante y correlación entre ambos: **3 meses de ejecución máxima desde la firma del contrato.**
- Puesta a punto de la metodología de extracción, validación correspondiente y resultados de secuenciación de los genes en las muestras de ADN genómico procedente de célula tumoral circulante: **6 meses de ejecución máxima desde la firma del contrato.**

Se contempla la posibilidad de prórroga del contrato, en casos debidamente justificados, y según lo recogido en el PCAP.

6. NORMATIVA DE APLICACIÓN

Para la realización del servicio objeto de esta licitación se aplicará la normativa de referencia de índole comunitaria, estatal, autonómica y local.

Madrid, a 12 de julio de 2016

LA VICEPRESIDENTA DEL PATRONATO

Vicepresidenta del Patronato de la Fundación
para la Investigación Biomédica del Hospital Gregorio Marañón
(Art. 19 Estatutos)

Dña. María Codesido López

Fdo: Dña. María Codesido López
Vicepresidenta del Patronato
Fundación para la Investigación Biomédica
Hospital Gregorio Marañón