

PLEC DE PRESCRIPCIONS TÈCNIQUES PER UN SERVEI D'ANÀLISI TRANSCRIPTÒMIC A NIVELL ESPACIAL (SPATIAL TRANSCRIPTOMICS) EN MOSTRES D'INTESTÍ GROS HUMÀ PER ESTUDIAR LES DIFERÈNCIES EN L'EXPRESSIÓ GÈNICA A NIVELL CEL·LULAR I SUBCEL·LULAR EN PACIENTS AMB VIH, DESTINAT AL LABORATORI DE BIOLOGIA DE LES CÈL·LULES B PERTANYENT AL PROGRAMA D'INVESTIGACIÓ DE CLÍNICA TRASLACIONAL DE L'HOSPITAL DEL MAR RESEARCH INSTITUTE.

1. OBJECTE

Aquest plec té com a objecte definir les condicions tècniques que regiran el procediment per a la provisió del servei de seqüenciació de mRNA a nivell espacial en teixits humans d'intestí gros, amb l'objectiu d'estudiar les diferències en l'expressió gènica a nivell cel·lular i subcel·lular en pacients amb VIH.

2. REQUISITS BÀSICS

2.1. Materials

- Les mostres seran proporcionades per l'equip d'investigació del grup d'investigació de Biologia de les Cèl·lules B, pertanyent al programa d'Investigació de Clínica Traslacional de l'Hospital del Mar Research Institute.
- Les mostres consistiran en teixits humans d'intestí gros que ja es troben fixats, congelats i embeguts en OCT (Optimal Cutting Temperature, un compost específic per preservar estructures ultracel·lulars i àcids nucleics).
- L'empresa adjudicatària haurà de definir les condicions de recepció i enviament de les mostres, incloent els requisits de conservació i transport, sempre a ≤ -80 °C.
- L'enviament de les mostres es realitzarà segons les condicions acordades entre les parts.

2.2. Activitats i funcions de l'empresa contractista

L'empresa contractista haurà de realitzar les següents tasques:

- **Preparació de les mostres:**
 - Tall de les mostres en seccions de 10 µm compatibles amb la plataforma 10x Genomics Xenium i Xenium Analyzer.
 - Muntatge de les seccions en portaobjectes compatibles amb la tecnologia 10x Genomics Xenium i Xenium Analyzer.
 - Tractament previ de les seccions, tenint en compte que es treballarà amb teixits embeguts en OCT.
 - Avaluació de la integritat tissular i viabilitat de l'ARN per garantir que les mostres compleixen els requisits mínims per a transcriptòmica espacial.

- **Disseny del panell personalitzat de gens:**
 - Ús del panell predissenyat per 10x Genomics anomenat Human Colon, que inclou 322 gens.
 - Inclusió del panell personalitzat de 100 gens addicionals, que serà dissenyat pels investigadors en col·laboració amb el personal científic de l'empresa contractada.
 - Validació del disseny del panell assegurant la compatibilitat amb els objectius del projecte.
- **Segmentació cel·lular basada en marcadors:**
 - Selecció de marcadors específics: disseny o validació d'un panell de marcadors immunològics i/o específics per a còlon humà que permeti la segmentació cel·lular precisa (p. ex., epitelials, immunes, estromals).
 - Segmentació mitjançant Xenium: generació de mapes que defineixen les regions i tipus cel·lulars dins de cada mostra basats en els marcadors seleccionats.
- **Control de qualitat (QC) de l'ARN:**
 - Extracció d'ARN de mostres representatives (si cal) per avaluar integritat i quantitat.
 - Realització de proves d'integritat de l'ARN (p. ex., utilitzant Bioanalyzer o TapeStation per obtenir el RIN - RNA Integrity Number).
 - Rebuig o recomanació de noves preparacions si l'ARN no compleix els estàndards de qualitat requerits.
- **Captura i etiquetatge d'ARN:**
 - Captura espacial de molècules d'ARN directament en els portaobjectes Xenium.
 - Realització d'hibridacions amb sondes per al panell de 322 gens predefinit (Human Colon) i els 100 gens personalitzats.
 - Control de qualitat en cada pas per evitar pèrdua de senyal o errors tècnics.
- **Processament bioinformàtic inicial:**
 - Generació de mapes espacials: integració de les dades d'expressió gènica amb la segmentació cel·lular per obtenir mapes detallats de localització i expressió gènica en el teixit.
 - Control de qualitat bioinformàtic: verificació de la cobertura espacial i la qualitat de les dades d'expressió.
- **Lliurament de resultats:**
- Els resultats s'han de lliurar fins al 31/12/2025
 - Dades crues i processades en formats estàndard.
 - Informe tècnic detallat amb: descripció del procés seguit, resultats dels controls de qualitat en cada etapa i interpretació inicial de les dades.
 - Assegurar la transferència segura de dades i la confidencialitat.

2.3. Instal·lacions i personal

L'empresa contractista haurà de disposar de:

- **Laboratori equipat per a la manipulació de mostres humanes:**
 - Instal·lacions amb zones específiques per a la recepció, emmagatzematge i processament de mostres biològiques humanes, assegurant condicions estèrils i controlades.
 - Ultra-congeladors (≤ -80 °C) i sistemes d'emmagatzematge en nitrogen líquid per garantir l'estabilitat de les mostres embegudes en OCT.
- **Infraestructura per a transcriptòmica espacial:**
 - Equips compatibles amb la tecnologia 10x Genomics Xenium.
 - Microscopis d'alta resolució per a la validació visual de les seccions tissulars i l'avaluació dels marcadors.

Dr. Andrea Cerutti
Fundació IMIM