

PLIEGO DE PRESCRIPCIONES TÉCNICAS

DESCRIPCIÓN Y ESPECIFICACIONES TÉCNICAS DEL SERVICIO DE TRANSCRIPTÓMICA DE MUESTRAS BIOLÓGICAS MEDIANTE LA APLICACIÓN DE LAS TECNOLOGÍAS DE RNAseq Y smallRNAseq, PARA PROYECTO DE INVESTIGACIÓN, SUBVENCIONADO POR LA FUNDACIÓN BANCARIA CAIXA D'ESTALVIS I PENSIONS DE BARCELONA, "la Caixa"

EXP.NÚM.IISPV2025-10

1.- Objeto del contrato y objetivos del servicio

El presente pliego tiene por objeto establecer las prescripciones técnicas particulares que regirán la contratación de los servicios de análisis transcriptómicos en el contexto del proyecto sobre obesidad mórbida y sus comorbilidades metabólicas. El presente contrato se estructura en dos lotes, correspondientes a dos metodologías complementarias que se describen a continuación:

- **Lote 1:** Secuenciación de ARN mensajero (RNA-seq) para la obtención de perfiles transcriptómicos globales de 48 muestras humanas procedentes de tejido adiposo visceral, subcutáneo e hígado (16 por tejido).
- **Lote 2:** Secuenciación de microRNA (smallRNA-seq) para la caracterización de microARNs en 48 muestras humanas de los mismos tejidos, incluyendo además el análisis de muestras de plasma (12 por tejido).

El objetivo general del servicio es caracterizar los perfiles de expresión génica y de microARNs en muestras humanas de tejido y plasma, provenientes de una cohorte de pacientes con obesidad de tipo III y otra cohorte de individuos control. En esta población, la obesidad está acompañada o no de comorbilidades como diabetes mellitus tipo 2, esteatosis hepática, esteatohepatitis o aterosclerosis. Estas enfermedades metabólicas presentan un trasfondo complejo en el que se entrelazan inflamación crónica, disfunción mitocondrial y alteraciones epigenéticas, como respuesta a un desequilibrio energético.

Los objetivos específicos del servicio, comunes a ambos lotes, serán:

1. **Obtener los perfiles transcriptómicos globales (RNA-seq) y de microARNs (smallRNA-seq)** para identificar genes y pequeños ARN reguladores diferencialmente expresados entre los grupos de pacientes.
2. **Detectar posibles biomarcadores transcriptómicos** y mecanismos de regulación génica asociados a las enfermedades concomitantes con la obesidad.
3. **Entregar un informe detallado** de la metodología empleada, incluyendo (si se incluye) el protocolo de extracción de RNA, control de calidad de muestras, preparación de librerías, secuenciación, alineamiento, cuantificación y análisis bioinformático.
4. **Ofrecer asesoramiento científico** para la interpretación de los resultados, incluyendo análisis exploratorios, agrupamientos, análisis funcional y de rutas metabólicas,

análisis de enriquecimiento de vías, detección de isoformas y splicing alternativo, y detección de variantes (SNPs y mutaciones).

El responsable del proyecto podrá solicitar cuantas aclaraciones considere oportunas con respecto a los informes generados.

Toda la información derivada del servicio será propiedad del centro contratante. El licitador deberá facilitar sin coste adicional alguno cualquier clave, licencia o contraseña necesaria para el acceso completo a los datos y el uso de estos.

CPV: 73111000-3 Servicios de laboratorio de investigación

2.- Introducción

El éxito de los estudios transcriptómicos radica en la capacidad de identificar y cuantificar con precisión los ARN mensajeros (mRNA) y los pequeños ARN no codificantes (como los microARNs) en los tejidos u otros tipos de muestras biológicas. Las tecnologías de secuenciación masiva (RNA-seq y smallRNA-seq) son idóneas para este análisis debido a su elevada sensibilidad, alta resolución, cobertura global del transcriptoma y capacidad para detectar variaciones en la expresión génica, isoformas, eventos de splicing alternativo y ARN no codificantes.

La necesidad del contrato se plantea ante el proyecto de investigación "Phospholipid biosynthesis and transport between endoplasmic reticulum and mitochondria: understanding their essential role in liver disorders" relacionado con la caracterización transcriptómica de tejidos y plasma en pacientes con obesidad mórbida, con y sin enfermedades metabólicas asociadas como diabetes tipo 2, esteatosis hepática, esteatohepatitis o aterosclerosis. Para su desarrollo, se requiere (**Lote 1**) la obtención de perfiles de expresión génica (RNA-seq), así como (**Lote 2**) de perfiles de microARNs circulantes (smallRNA-seq) así como en diferentes tipos de muestras humanas.

Dado el carácter del estudio, serán de especial interés los perfiles de expresión diferencial entre tejidos, la identificación de transcritos específicos relacionados con procesos de inflamación, disfunción mitocondrial y regulación epigenética, así como la detección de microARNs con potencial regulador sistémico.

3.- Requisitos del servicio

El adjudicatario deberá contar con el equipamiento y tecnología necesarios para llevar a cabo los servicios descritos en ambos lotes, incluyendo plataformas de **secuenciación de nueva generación (Next Generation Sequencing, NGS)** de alto rendimiento, así como con personal técnico especializado capaz de mantener una interlocución eficaz con el equipo investigador del IISPV. Se deberán aplicar protocolos validados y procesos estandarizados para todas las fases del servicio, garantizando en todo momento la calidad, reproducibilidad y seguridad de los datos generados.

- **Lote 1: RNA-seq (secuenciación de ARN mensajero)**

- Recepción de las muestras de RNA y control de calidad mediante análisis de integridad (valor RIN ≥ 7), cuantificación y detección de posibles contaminaciones.
 - Disposición de plataformas de secuenciación de nueva generación (NGS) y equipamiento específico para la preparación de bibliotecas de cDNA adaptadas a RNA-seq.
 - Aplicación de controles de calidad y procesos de normalización sobre los datos obtenidos por secuenciación.
 - Entrega de un informe detallado sobre el resultado de los controles de calidad y la idoneidad de las técnicas empleadas.
 - Cuantificación de la expresión génica a nivel de transcritos y entrega de los resultados en formatos accesibles (Excel, *.csv, *.pdf), incluyendo anotaciones y metadatos relevantes.
- **Lote 2: smallRNA-seq (secuenciación de microARNs)**
- Recepción de las muestras de RNA y control de calidad mediante análisis de integridad (valor RIN ≥ 7), cuantificación y detección de posibles contaminaciones.
 - Disposición de plataformas de secuenciación de nueva generación (NGS) y equipamiento específico para la preparación de bibliotecas de cDNA adaptadas a smallRNA-seq.
 - Aplicación de controles de calidad y normalización adecuados a este tipo de análisis.
 - Detección y cuantificación de microARNs en las muestras indicadas, con entrega de archivos en formatos compatibles con análisis posteriores.
 - Inclusión de anotaciones y metadatos relevantes en los archivos entregados.

Requisitos comunes a ambos lotes:

La presentación de los datos deberá permitir su análisis estadístico y visualización por parte del equipo investigador, de forma sencilla, inmediata y sin restricciones.

En caso de ser necesario el uso de software específico para la visualización o tratamiento de los datos, este deberá proporcionarse por parte de la empresa adjudicataria sin suponer coste adicional alguno y sin uso de licencias restringidas.

Se deberá garantizar en todo momento la seguridad y confidencialidad de la información generada.

El adjudicatario deberá asignar un responsable del servicio para la gestión de comunicaciones y requerimientos con el IISPV.

Se valorará positivamente la posibilidad de acceso a las instalaciones del adjudicatario por parte de un miembro del IISPV para participar en la adquisición, interpretación y análisis de los datos, de acuerdo con el objetivo IV del servicio.

4.- Metodología

Las muestras de RNA serán entregadas al adjudicatario en varios lotes, en microtubos o criotubos identificados, previamente extraídas y almacenadas a -80°C hasta su envío.

El envío será gestionado por el IISPV en condiciones adecuadas (como el uso de hielo seco u otros métodos válidos) para asegurar la integridad del ARN y garantizar su idoneidad para análisis transcriptómicos.

En coordinación con la persona responsable del proyecto por parte del IISPV, el adjudicatario será responsable de:

Lote 1: RNA-seq (secuenciación de ARN mensajero)

- Recibir y verificar las muestras de RNA mensajero previamente extraídas.
- Evaluar la calidad del material recibido mediante análisis de integridad (RIN), cuantificación y detección de contaminantes.
- Preparar las bibliotecas específicas de cDNA necesarias para RNA-seq siguiendo protocolos validados.
- Ejecutar la secuenciación en plataformas de nueva generación (NGS) de alto rendimiento.
- Realizar un análisis bioinformático que incluya control de calidad, alineamiento, cuantificación de expresión génica, análisis diferencial y anotación funcional.
- Entregar los datos obtenidos en formatos accesibles y compatibles con análisis posteriores (como *.csv, *.pdf, *.xlsx).
- Emitir un informe final con una descripción detallada de la metodología empleada, calidad de las muestras, parámetros técnicos de la secuenciación, resultados principales del análisis bioinformático y relación de los archivos entregados.

Lote 2: smallRNA-seq (secuenciación de microARNs)

- Recibir y verificar las muestras de RNA previamente extraídas.
- Evaluar la calidad del RNA total, incluyendo análisis de integridad (RIN), concentración y presencia de posibles contaminantes.
- Preparar las bibliotecas específicas para el análisis de smallRNAs (microARNs), adaptadas a su longitud y características particulares.
- Ejecutar la secuenciación mediante plataformas NGS de alto rendimiento, optimizadas para la detección de RNAs pequeños.
- Procesar los datos mediante herramientas bioinformáticas específicas para smallRNA-seq: control de calidad, alineamiento, identificación y cuantificación de microARNs, y anotación funcional.
- Entregar los datos en formatos adecuados para el análisis estadístico y visualización por parte del equipo investigador.
- Emitir un informe final que incluya la metodología empleada, parámetros técnicos, resumen de calidad de las muestras, resultados principales del análisis y relación de ficheros entregados.

Requisitos comunes:

El adjudicatario prestará asesoramiento a un miembro del proyecto en la interpretación de los resultados y en los análisis pertinentes que se deriven del estudio transcriptómico.

Se entregará un informe final por escrito en formato electrónico, y se habilitará un periodo de hasta tres meses tras la entrega para resolver dudas, aclaraciones o requerimientos técnicos por parte del IISPV, sin que ello suponga ningún incremento en el presupuesto.

Cualquier incidencia técnica que afecte al desarrollo del servicio deberá ser comunicada formalmente y con inmediatez al responsable del proyecto en el IISPV

5.-Detalle del Trabajo a realizar

El adjudicatario deberá realizar un control de calidad del RNA extraído antes de iniciar la preparación de las bibliotecas, para asegurar la integridad, pureza y concentración adecuadas de las muestras.

Se obtendrá el perfil transcriptómico completo de cada muestra, permitiendo al IISPV evaluar si existen patrones de expresión génica (ARNm y/o microARNs) que discriminen entre los distintos grupos de estudio. El análisis estadístico e interpretación final de estos perfiles será llevado a cabo por el IISPV.

Lote 1 – RNA-seq (ARN mensajero)

El adjudicatario realizará las siguientes tareas:

- Control de calidad de las muestras de RNA: evaluación de integridad (RIN), cuantificación y detección de contaminantes.
- Preparación de bibliotecas específicas para RNA-seq.
- Secuenciación mediante plataformas de nueva generación (NGS) de alto rendimiento.
- Entrega del siguiente material:
 1. Informe explicativo con descripción de la metodología (preparación de bibliotecas, plataforma y parámetros de secuenciación, pipeline bioinformático) y resumen de resultados (calidad, lecturas obtenidas, genes detectados, hallazgos clave).
 2. Hoja de cálculo (Excel) con los datos de expresión génica normalizados (TPM, RPKM o counts normalizados), identificando muestras y genes/transcritos detectados.
 3. Ofrecer asesoramiento científico para la interpretación de los resultados, incluyendo análisis exploratorios, agrupamientos, análisis funcional y de rutas metabólicas, análisis de enriquecimiento de vías, detección de isoformas y splicing alternativo, y detección de variantes (SNPs y mutaciones).
 4. Aplicación de filtros de calidad por expresión mínima para inclusión en análisis posteriores.
 5. Idioma del informe: castellano, catalán y/o inglés.
 6. Acceso libre a todos los datos generados, sin restricciones ni costes adicionales por licencias, accesos o exportaciones.

Lote 2 – smallRNA-seq (microARNs)

El adjudicatario realizará las siguientes tareas:

- Control de calidad del RNA total para asegurar la viabilidad del análisis de microARNs.
- Preparación de bibliotecas adaptadas para secuenciación de smallRNAs.
- Secuenciación mediante plataformas NGS especializadas en RNA de pequeño tamaño.
- Entrega del siguiente material:
 1. Informe metodológico con detalle de la preparación de bibliotecas, tecnología de secuenciación y estrategia bioinformática, junto con resumen de resultados.
 2. Hoja de cálculo (Excel) con los datos de expresión de microARNs normalizados.
 3. Ofrecer asesoramiento científico para la interpretación de los resultados, incluyendo análisis exploratorios, agrupamientos, análisis funcional y de rutas metabólicas, análisis de enriquecimiento de vías, detección de isoformas y splicing alternativo, y detección de variantes (SNPs y mutaciones).
 4. Inclusión de microARNs según filtros mínimos de expresión para análisis posteriores.
 5. Idioma del informe: castellano, catalán y/o inglés.
 6. Todos los resultados estarán libres de restricciones de uso, con acceso completo a los datos y sin costes adicionales posteriores.

6.- Plazo de vigencia

El plazo de ejecución del servicio se inicia con la formalización del contrato y finaliza con el cierre del proyecto de investigación que se prevé para el 31 de julio de 2025, sin posibilidad de prórroga. Este plazo incluirá la realización de todos los servicios necesarios para la completa ejecución de las tareas definidas en el presente PPT, incluyendo, de forma enunciativa pero no limitativa, el análisis de ARN, obtención del perfil transcriptómico, tratamiento estadístico, análisis de datos y entrega del informe final.