



Institut  
de Recerca  
Sant Pau

**PLIEGO DE PRESCRIPCIONES TÉCNICAS PARA REALIZAR LA PRESTACIÓN DE SERVICIOS DE SECUENCIACIÓN MEDIANTE SCRNASEQ Y TCRSEQ EN EL MARCO DE LOS PROYECTOS CON CÓDIGO IN00077 Y PCN00914 PARA LA FUNDACIÓ INSTITUT DE RECERCA HOSPITAL DE LA SANTA CREU I SANT PAU.**

**EXP. LICIR 25/36**



Barcelona, a 02 de junio de 2025

El objeto de este pliego de prescripciones técnicas es el de definir las características mínimas a cubrir por la oferta y posterior contrato de prestación de servicios de secuenciación mediante scRNAseq y TCRseq en el marco de los proyectos de investigación con códigos IN00077 y PCN00914 para la Fundació Institut de Recerca de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau.

Este contrato es objeto de financiación del proyecto de investigación con código IN00077 *“Single cell transcriptomics of PBMCs and CSF cells in the SPIN Alzheimer Disease cohort”* por parte de la empresa Novo Nordisk mediante convenio de colaboración y por parte del proyecto con código PCN00914 *“Assessing the role of CSF immune cells in ALS”* por la Fundación Luzón.

## A. DESCRIPCIÓN DEL CONTRATO:

### A.1. Antecedentes

El objetivo de la Fundació Institut de Recerca de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau es promover la investigación básica, clínica, epidemiológica y de servicios sanitarios en el campo de las ciencias de la salud y la biomedicina, con el último objetivo de contribuir a la mejora de la salud de la población.

Con este objetivo de contribuir a la mejora de la salud de la población, los siguientes estudios pretenden conocer al máximo detalle las alteraciones en el sistema inmunitario a nivel celular. Para ello, el estudio *“Single cell transcriptomics of PBMCs and CSF cells in the SPIN Alzheimer Disease cohort”* se centra en la enfermedad de Alzheimer y el estudio *“Assessing the role of CSF immune cells in ALS”* en la esclerosis lateral amiotrófica (ELA). Explorar y desarrollar estas alteraciones mediante la tecnología *“single-cell RNA sequencing”* (scRNAseq) y *“T cell receptor sequencing”* (TCRseq) en cohortes de pacientes con Alzheimer, ELA y controles, permitirá dar un salto en el conocimiento de los procesos que se asocian a la neurodegeneración y la neuroinflamación, haciéndolos más personalizados en cada enfermedad neurodegenerativa.

La enfermedad de Alzheimer (EA) y la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) son enfermedades neurodegenerativas caracterizada por la degeneración de las neuronas. La neuroinflamación es una característica patológica de las enfermedades neurodegenerativas y desempeña un papel importante en su patogénesis y progresión. Este proceso se caracteriza por la expansión de microglía y astrocitos en el parénquima del sistema nervioso central (SNC), que adquieren un estado reactivo.



En este contexto, el desarrollo de tecnologías de secuenciación de ARN unicelular (scRNASeq) ha permitido a los investigadores perfilar el transcriptoma de miles de células con resolución celular individual, revelando una heterogeneidad sin precedentes de los tipos celulares humanos con firmas de expresión únicas. Usando esta tecnología no sesgada de alto rendimiento en modelos murinos de enfermedad de Alzheimer (EA), se ha implicado a una subpoblación de microglía (microglía asociada a enfermedad, DAM por sus siglas en inglés) como principal reguladora de la neuroinflamación en la EA. De forma importante, nuestro equipo ha liderado recientemente un estudio que identificó, por primera vez en el cerebro de pacientes con ELA, a DAM como el principal impulsor de la neuroinflamación y la disfunción sináptica en la corteza motora de casos de ELA. Demostramos que esta subpoblación microglial se caracteriza por expresar altos niveles de marcadores del complejo mayor de histocompatibilidad clase II (MHCII), los cuales, en condiciones neurodegenerativas, son responsables de la presentación de antígenos a células T.

En este contexto, aunque tradicionalmente se ha considerado al SNC como una región inmunológicamente privilegiada, estudios recientes han demostrado que la infiltración de células inmunes en el SNC es un evento común que ocurre en el contexto neuroinflamatorio de las enfermedades neurodegenerativas, aunque su papel ha sido subestimado. Existe una compleja interacción entre el sistema inmune central y periférico que influye en la fisiopatología de la EA y la ELA. En consecuencia, una comprensión adecuada del papel de las células inmunes periféricas en la neuroinflamación es crucial para descifrar la base molecular de estas enfermedades y descubrir nuevos biomarcadores específicos en sangre para la neuroinflamación, así como estrategias terapéuticas.

Estudios previos han identificado aumentos en subpoblaciones de células T reguladoras (Treg), así como en células T CD4+, células asesinas naturales (NK) y monocitos, a través de citometría de flujo de sangre periférica en pacientes con enfermedades neurodegenerativas, lo que demuestra la presencia de alteraciones en células inmunes en la EA y la ELA. Sin embargo, ninguno de estos estudios ha utilizado scRNASeq para caracterizar el compartimiento inmune de la sangre periférica con resolución unicelular. En este sentido, por primera vez en el campo, nuestro equipo ha caracterizado recientemente el compartimento inmune de la sangre periférica en ELA mediante secuenciación de ARN unicelular utilizando fondos sin objetivos superpuestos con este proyecto. Hemos detectado más de 50 subtipos de células inmunes en sangre periférica, y nuestros resultados muestran un notable aumento de una subpoblación de células NK en la sangre de pacientes con ELA, así como alteraciones significativas en la expresión génica y patrones deteriorados de comunicación intercelular dentro del mismo subtipo NK.

En este proyecto caracterizaremos el compartimento inmune de la sangre periférica y el líquido cefalorraquídeo con resolución unicelular. Para ello necesitamos aplicar la



tecnología scRNAseq para caracterizar las células del sistema inmunitario periférico y el líquido cefalorraquídeo (biofluido que baña el SNC). Además de ello, aplicaremos TCRseq para determinar los distintos clonotipos de células T, permitiendo caracterizar la diversidad de receptores de células T a resolución celular. Es importante destacar que este estudio generará una plataforma para descubrir nuevos marcadores genéticos y celulares de la disfunción inmune relacionada con la EA y la ELA. Nuestros datos proporcionarán conocimientos sobre la base molecular de estas enfermedades neurodegenerativas, y facilitarán el desarrollo de nuevos biomarcadores y objetivos terapéuticos.

#### **A.2. Objetivos del proyecto:**

En estos proyectos caracterizaremos el compartimento inmune de la sangre periférica y el líquido cefalorraquídeo con resolución unicelular. Para ello necesitamos aplicar la tecnología scRNAseq para caracterizar las células del sistema inmunitario periférico y el líquido cefalorraquídeo (biofluido que baña el SNC). Además de ello, aplicaremos TCRseq para determinar los distintos clonotipos de células T, permitiendo caracterizar la diversidad de receptores de células T a resolución celular. Es importante destacar que estos estudios generarán una plataforma para descubrir nuevos marcadores genéticos y celulares de la disfunción inmune relacionada con la EA y la ELA. Nuestros datos proporcionarán conocimientos sobre la base molecular de estas enfermedades neurodegenerativas, y facilitarán el desarrollo de nuevos biomarcadores y objetivos terapéuticos.

#### **A.3. Objeto del Contrato:**

El objeto del contrato es el servicio de generación de librerías (expresión génica y receptores de células T) y secuenciación masiva de muestras derivadas de células inmunitarias de sangre y líquido cefalorraquídeo. Para ello, se requiere de la utilización del instrumento Chromium X (10x Genomics) para aislamiento y generación de código de barras a nivel celular. La preparación de librerías para expresión génica se realizará mediante el kit “GEM-X Universal 5' Gene Expression v3 4-plex” (10x Genomics), permitiendo el pooling de hasta 4 muestras/plex y con un “target recovery” de 4,000-5,000 células por muestra. Asimismo, para cada plex, se realizará la preparación de librerías de receptores de células T (TCRseq) mediante “Chromium Single Cell Human TCR Amplification Kit” (10X Genomics). Una vez preparadas las librerías, se realizará un control de calidad con “Agilent High Sensitivity DNA kit” en Agilent 2100 Bioanalyzer (o equivalente).

La secuenciación se realizará en la plataforma Illumina (NovaSeq6000 o superior) con 28+10+10+90 bp “paired-end reads” y una profundidad de 800 millones de reads por



librería, correspondiendo a 40,000 reads/célula (scRNAseq) y 2,000 reads/célula (TCRseq).

La prestación de este servicio objeto del contrato se divide en dos lotes:

- LOTE 1: Servicio de secuenciación mediante scRNAseq y TCRseq en el marco del proyecto de investigación con código IN00077 “*Single cell transcriptomics of PBMCs and CSF cells in the SPIN Alzheimer Disease cohort*”
- LOTE 2: Servicio de secuenciación mediante scRNAseq y TCRseq en el marco del proyecto de investigación con código PCN00914 “*Assessing the role of CSF immune cells in ALS*”

Las codificaciones CPV que corresponderán a este contrato son:

- 73111000-3 - Servicios de laboratorio de investigación.

## B. PRESUPUESTO BASE DE LICITACIÓN

Se entiende por presupuesto base de licitación el límite máximo de gasto que, en virtud del contrato puede comprometer el órgano de contratación. Dado que el presupuesto de licitación tiene que ser adecuado a los precios de mercado, teniendo que tener en consideración los costes directos e indirectos y otros eventuales gastos calculados para su determinación, se fija el siguiente presupuesto de licitación:

Presupuesto base de licitación (total):

Concepto	Importe (IVA excluido)	IVA (21%)	Importe total (IVA incluido)
Presupuesto base de licitación (por tres años)	219.200,00 €	46.032,00 €	265.232,00 €

El presupuesto base de licitación, se irá agotando de acuerdo con los servicios que se realicen. La Fundació Institut de Recerca Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, no está obligada a agotar el presupuesto descrito en atención al hecho que el precio final se determinará en función de las necesidades reales de la entidad y aplicando los precios unitarios correspondientes.

Precio unitario de la secuenciación por muestra mediante scRNAseq + TCRseq estimado: **1.600.-€** (estimación de 137 muestras).



**El objeto del presente contrato está financiado con fondos provenientes para el Lote 1, de un convenio de colaboración con la empresa Novo Nordisk y para el Lote 2, de fondos de la Fundación Luzón, evaluados por el Instituto de Salud Carlos III.**

**B.1. Presupuesto base de licitación del LOTE 1:** Servicio de secuenciación mediante scRNASeq y TCRseq en el marco del proyecto de investigación con código IN00077 “*Single cell transcriptomics of PBMCs and CSF cells in the SPIN Alzheimer Disease cohort*”

Concepto	Importe (IVA excluido)	IVA (21%)	Importe total (IVA incluido)
Presupuesto base de licitación (por tres años)	155.200,00 €	35.592,00 €	187.792,00 €

El importe corresponde a una estimación de 97 muestras (scRNASeq+TCRseq). Por tanto, un precio estimado de 1,600€ por muestra.

**B.2. Presupuesto base de licitación del LOTE 2:** Servicio de secuenciación mediante scRNASeq y TCRseq en el marco del proyecto de investigación con código PCN00914 “*Assessing the role of CSF immune cells in ALS*”

Concepto	Importe (IVA excluido)	IVA (21%)	Importe total (IVA incluido)
Presupuesto base de licitación (por tres años)	64.000,00 €	13.440,00 €	77.440,00 €

El importe corresponde a una estimación de 40 muestras (scRNASeq+TCRseq). Por tanto, un precio estimado de 1,600€ por muestra.

## C. PLAZO DE EJECUCIÓN

El plazo de ejecución del contrato tendrá una duración de 3 años, a contar desde el día siguiente a la formalización contractual.



Puede ser necesaria la prórroga de un año según el ritmo de reclutamiento del estudio, sin ampliación presupuestaria.

Las fechas para la realización de las diferentes operaciones integradas en el servicio tendrán que ser concertadas con la Fundació Institut de Recerca de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau.

#### D. CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS

El servicio secuenciación anteriormente especificado implica una serie de especificaciones técnicas que se enumeran a continuación:

- a. Control del número de células totales y su viabilidad en todas las muestras antes de la preparación de librerías.
- b. Utilización del instrumento Chromium X (10x Genomics) para aislamiento y generación de código de barras a nivel celular
- c. La preparación de librerías para expresión génica se realizará mediante el kit “GEM-X Universal 5' Gene Expression v3 4-plex” (10x Genomics), permitiendo el pooling de hasta 4 muestras/plex y con un “target recovery” de 4,000-5,000 células por muestra.
- d. Por cada plex, se realizará la preparación de librerías de receptores de células T (TCRseq) mediante “Chromium Single Cell Human TCR Amplification Kit” (10X Genomics)
- e. Una vez preparadas las librerías, se realizará un control de calidad con “Agilent High Sensitivity DNA kit” en Agilent 2100 Bioanalyzer (o equivalente)
- f. La secuenciación se realizará en la plataforma Illumina (NovaSeq6000 o superior) con 28+10+10+90 bp “paired-end reads” y una profundidad de 800 millones de reads por librería, correspondiendo a 40,000 reads/célula (scRNAseq) y 2,000 reads/célula (TCRseq).
- g. Acceso a los datos de secuenciación: se proporcionarán los archivos correspondientes a los datos de secuenciación en formato FASTQ. La transmisión de los archivos se hará de forma fiable y segura, mediante servidor FTP.

Los resultados de cada secuenciación del transcriptoma deberán ser entregados en un plazo no superior de 40 días naturales desde su realización.

El transporte de las muestras hasta el centro donde se realizarán los servicios de secuenciación correrá a cargo del IR SANT PAU y se efectuará en condiciones que garanticen su conservación óptima: Transporte a -80°C, con hielo seco y con un termómetro para el control de posibles desviaciones de temperatura.



## E. LIMITACIÓN DE PROXIMIDAD

El objeto del contrato es la prestación de servicios de generación de librerías y secuenciación masiva de las células inmunitarias de sangre y líquido cefalorraquídeo. Este servicio implica el procesamiento de células altamente sensibles a cambios de temperatura, especialmente las obtenidas del líquido cefalorraquídeo.

Para garantizar la calidad de los resultados, es imprescindible que las células utilizadas conserven una alta viabilidad y conserven su estado fisiológico. Cualquier alteración de sus condiciones óptimas de criopreservación, como un traslado prolongado, puede comprometer su integridad y, en consecuencia, afectar negativamente a los resultados del estudio. Cuanto mayor sea el tiempo de transporte o el intervalo hasta su procesamiento, mayor será la probabilidad de que se produzcan alteraciones en el estado celular, lo que puede inducir sesgos en los datos obtenidos. En particular, la expresión génica puede verse alterada, reflejando un estado no homeostático asociado a disfunción o activación celular.

Este problema se ve agravado en el caso de las células procedentes del líquido cefalorraquídeo, dado que la cantidad de células obtenida por muestra es muy limitada. Esto no solo incrementa la sensibilidad al deterioro, sino que convierte cada muestra en un recurso único y de alto valor científico. Además, estas muestras son únicas, ya que no se dispone de réplicas de ninguna de ellas, lo que resalta aún más su valor. Por tanto, un traslado rápido y controlado es aún más crucial, ya que cualquier demora fuera del estado óptimo de criopreservación puede derivar en una reducción significativa de la viabilidad celular y, por tanto, en un aumento de la muerte celular.

En conjunto, **todos estos factores justifican la necesidad de que la empresa que lleve a cabo el servicio objeto del contrato no se encuentre a más de DOS HORAS de transporte refrigerado a -80 °C desde el Institut de Recerca del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau (ubicado en Carrer Sant Quintí, 77-79, 08041, Barcelona).** Esta proximidad resulta esencial para garantizar que el envío de las muestras al centro que realice los servicios se realice en el menor tiempo posible, lo que no solo preserva la calidad celular, sino que mejora de forma significativa la fiabilidad y precisión de los datos obtenidos en los servicios de secuenciación.

## F. METODOLOGÍA DE TRABAJO

La empresa adjudicataria es la responsable de prestar los servicios que se detallan en las características técnicas en el plazo de ejecución previsto.

Además, la empresa adjudicataria deberá asumir los siguientes compromisos:



- Compromiso de almacenamiento de datos durante 1 año después de obtener los datos brutos.
- Compromiso de garantía sobre el servicio: En caso de fallo técnico, se repetirá la prueba sin coste adicional para la Fundació Institut de Recerca. El plazo mínimo de garantía es de 6 meses desde la entrega de cada resultado.

La facturación del servicio se realizará a medida que se hagan los servicios, con la opción de hacer una única factura anual o facturas mensuales, bajo petición del solicitante.

## **G. RESPONSABILIDADES Y OBLIGACIONES DEL ADJUDICATARIO**

El contratista asumirá las responsabilidades y obligaciones que se exponen a continuación:

- El contratista será responsable de la calidad técnica del servicio así como de las consecuencias que supongan para la Fundació Institut de Recerca o terceros, las omisiones, errores, métodos inadecuados o conclusiones incorrectas a la hora de ejecutar el contrato.
- El contratista no podrá ceder o subcontratar las prestaciones del servicio del presente contrato sin autorización previa del centro.
- El contratista garantizará el cumplimiento de la normativa comunitaria, estatal, autonómica y local aplicable en el momento de realizar las tareas objeto del contrato y cualquier otra disposición oficial que se publique durante la vigencia del contrato.

## **H. PROCEDIMIENTOS GENERALES**

El contratista asumirá los procedimientos generales que se exponen a continuación:

- La Fundació Institut de Recerca no reconocerá ningún trabajo realizado fuera de los procedimientos indicados en el presente Pliego de Condiciones Técnicas o de las normas complementarias que se establezcan, o que no cuenten con su previa conformidad, aunque hayan sido solicitados por cualquier persona relacionada con ella, a cualquier nivel de responsabilidad.
- La Fundació Institut de Recerca no se hará cargo de ningún gasto producido como consecuencia de una intervención no autorizada, reservándose la facultad



de reclamar – si procediese – compensación por daños y/o perjuicios que se pudieran derivar.

- La Fundació Institut de Recerca ejercerá en todo momento las funciones de seguimiento, inspección y control de la prestación del servicio, tomando las medidas que considere oportunas para el correcto cumplimiento de las obligaciones a que se deberá someter el contratista como consecuencia del presente Pliego de Condiciones, así como del contrato que se deriva.

## I. OTROS COMPROMISOS DEL CONTRATISTA

El contratista se compromete al correcto desarrollo del servicio, con el uso de todos los medios necesarios para su adecuada calidad. El contratista se compromete a la correcta y adecuada realización del servicio con la calidad necesaria y con la incorporación de todas las medidas técnicas que sean precisas para prestar un servicio de esta naturaleza.

## J. CONFIDENCIALIDAD Y PROTECCIÓN DE DATOS

Toda la información facilitada por la Fundación Institut de Recerca de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau es confidencial y de su propiedad, por lo cual el licitador y cualquier persona dependiente del mismo que ejerza los funciones objeto de este contrato tendrá que mantener la confidencialidad plena sobre la información inherente.

En relación con los datos personales a los que pueda tener acceso en ocasión del contrato, la empresa contratista, deberá cumplir todo aquello que se establece en el Reglamento (UE) 2016/679, del Parlamento Europeo y del Consejo, de 27 de abril de 2016, relativo a la protección de las personas físicas en lo relativo al tratamiento de datos personales y libre circulación de estos datos y por el cual de deroga la Directiva 95/46/CE, en adelante el RGPD, a la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de protección de datos y garantía de los derechos digitales y al resto de normativa vigente en materia de protección de datos.

Dr. Oriol Dols-Icardo  
Investigador Principal  
Grupo de investigación en Neurobiología de las demencias  
Fundació Institut de Recerca de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau