

PLIEGO DE PRESCRIPCIONES TÉCNICAS

EXP.NÚM. IISPV2025-13

DESCRIPCIÓN Y ESPECIFICACIONES TÉCNICAS DE LA CONTRATACIÓN DEL SERVICIO DE ANÁLISIS GENÓMICOS, MEDIANTE LOTES, PARA PROYECTO DE INVESTIGACIÓN, SUBVENCIONADO POR EL INSTITUTO DE SALUD CARLOS III (ISCIII) Y COFINANCIADO POR LA UNIÓN EUROPEA

1.- Objeto del contrato y objetivos del servicio

El presente pliego tiene por objeto establecer las prescripciones técnicas que regirán la contratación de los servicios de análisis genómicos de muestras de DNA humano en el contexto del proyecto PI21/00612 *"Papel de la genética en el incremento de peso asociado a la esquizofrenia"*, subvencionado por el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) y cofinanciado por la Unión Europea.

El presente contrato se estructura en dos lotes, para la realización de dos técnicas complementarias que se describen a continuación:

- **Lote 1: Genotipado mediante un microarray de genotipado masivo de alta densidad** para el análisis de variantes genéticas comunes, tipo *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP), **de 120 muestras de DNA** obtenidas de sujetos con un primer episodio psicótico.
- **Lote 2: Secuenciación del exoma completo (Whole Exome Sequencing, WES) de 120 muestras de DNA** obtenidas de sujetos con un primer episodio psicótico.

El **objetivo del servicio** será **generar datos genómicos de alta calidad que permitan identificar variantes genéticas comunes y raras mediante un análisis bioinformático estandarizado, contribuyendo así al avance en la comprensión de los factores etiológicos asociados a la psicosis.**

Toda la información derivada del servicio será propiedad del IISPV. El licitador facilitará sin coste adicional alguno cualquier clave o contraseña necesaria para el acceso a los datos y el uso de estos.

2.- Introducción

Los trastornos psicóticos tienen una base genética compleja, influenciada por una combinación de variantes comunes de pequeño efecto y mutaciones raras con un mayor impacto funcional. Por tanto, el análisis conjunto de estas variantes mediante tecnologías adecuadas permite una caracterización más completa y robusta de los factores de riesgo genéticos.

La necesidad del presente contrato se plantea en el contexto del proyecto de investigación PI21/00612, cuyo objetivo es caracterizar el perfil genético de 120 sujetos con un primer episodio psicótico. Para ello se requiere obtener información tanto sobre variantes comunes como raras mediante tecnologías genómicas complementarias: el genotipado de todo el genoma mediante microarrays de alta densidad (**lote 1**) y la secuenciación masiva del exoma completo (WES) (**lote 2**). Dado el volumen y la complejidad de los procedimientos técnicos implicados, se requiere la externalización del servicio a una empresa especializada con capacidades contrastadas en ambas tecnologías.

El genotipado mediante el microarray permite detectar de forma eficiente y reproducible cientos de miles de variantes comunes distribuidas por todo el genoma. Este tipo de plataforma es ideal para estudios de asociación genómica (GWAS), al permitir evaluar componentes poligénicos del riesgo y generar una gran cantidad de datos que pueden ser utilizados en múltiples análisis posteriores, incluidos estudios de predicción del riesgo genético.

Por otro lado, la secuenciación del exoma completo (WES) es una tecnología de análisis de alto rendimiento que permite la caracterización precisa de variantes genéticas localizadas en regiones codificantes del genoma humano, las cuales representan menos del 2% del genoma, pero concentran la mayoría de las variantes patogénicas conocidas. Para garantizar una identificación precisa y fiable de estas variantes, especialmente las de baja frecuencia, es fundamental alcanzar una cobertura suficiente durante la secuenciación. Una cobertura mínima de 100x permite obtener múltiples lecturas independientes de cada base, mejorando así la sensibilidad y reduciendo la probabilidad de errores técnicos o falsos positivos. Asimismo, una buena cobertura es crucial para evitar regiones mal representadas o no cubiertas, asegurando así la reproducibilidad de los resultados y su utilidad en posteriores análisis.

Siguiendo el planteamiento del estudio, se precisa que el servicio de genotipado mediante GSA y de secuenciación WES se realice en un periodo máximo de 6 meses, generando datos genómicos de alta calidad a partir de muestras de DNA humano. La empresa adjudicataria deberá garantizar la calidad en todas las fases de trabajo: control de calidad de las muestras, preparación y procesamiento técnico, análisis bioinformático de los datos y entrega de resultados en formatos estandarizados.

3.-Requisitos del servicio

El responsable del contrato deberá poseer un título de doctor o una categoría profesional equivalente, y demostrar experiencia contrastada en técnicas de genotipado masivo y secuenciación del exoma completo mediante publicaciones en revistas científicas indexadas en calidad de primer autor o autor de correspondencia. Se dispondrá de una plataforma técnica robusta que garantice la calidad y reproducibilidad de los resultados, así como de personal técnico especializado capaz de mantener una interlocución eficaz con el equipo investigador del IISPV.

La empresa adjudicataria deberá contar con tecnología adecuada para llevar a cabo los servicios descritos en ambos lotes.

- **Lote 1: Genotipado mediante un microarray de genotipado masivo de alta densidad**
 - Recepción y control de calidad del DNA mediante electroforesis en gel y espectrofotometría.
 - Genotipado con una tecnología de microarrays de alta densidad que sea ampliamente utilizada en estudios de asociación genómica y que incluya más de 650.000 marcadores genéticos, siguiendo el protocolo estándar de amplificación, fragmentación, hibridación, extensión y escaneo.

- Análisis de datos con un software especializado de análisis genotípico para la generación de archivos IDAT y cálculo de *call rate* ($\geq 98\%$). Así como entrega de los archivos binarios .bed.
- **Lote 2: Secuenciación del exoma completo (Whole Exome Sequencing, WES)**
 - Recepción y control de calidad del DNA mediante fluorometría, espectrofotometría y análisis de fragmentos
 - Preparación y validación de librerías, captura exómica y secuenciación masiva paired-end (150 pb)
 - Análisis bioinformático completo: QC, alineamiento y anotación con herramientas estandarizadas.

Se deberán aplicar protocolos validados para todas las fases del proceso, así como herramientas y metodologías reconocidas internacionalmente en el ámbito genómico.

4.- Metodología

Las muestras de DNA serán entregadas al adjudicatario en un lote, en tubos identificados, previamente extraídas y cuantificadas.

El adjudicatario asumirá los costes de envío de las muestras biológicas y se encargará de la recepción, verificación y procesamiento de las muestras, aplicando procedimientos de control de calidad específicos a cada lote.

Para el Lote 1, el adjudicatario procederá a:

- Evaluar la calidad del material genético recibido mediante espectrofotometría y electroforesis en gel
- Realizar la amplificación, fragmentación, precipitación y resuspensión del DNA para la posterior hibridación del DNA fragmentado sobre los microarrays de genotipado.
- Completar el proceso de genotipado con lavado, extensión, tinción y escaneado con un láser de alta resolución.
- Procesar los datos obtenidos con software específico que permita parámetros de calidad como el *call rate* y los *gencall scores*.
- Entregar los resultados a los investigadores responsables en los plazos acordados.

Para el Lote 2, el adjudicatario procederá a:

- Evaluar la calidad del material genético recibido mediante control de pureza, integridad y concentración.
- Construir librerías de ADN a partir del material proporcionado.
- Capturar las regiones exónicas según los estándares internacionales.
- Realizar la secuenciación de las librerías en plataformas de alto rendimiento.
- Procesar los datos obtenidos con herramientas bioinformáticas estandarizadas.
- Entregar los resultados a los investigadores responsables en los plazos acordados.

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

5.-Detalle del Trabajo a realizar

El trabajo incluye el envío de las muestras biológicas y la ejecución completa del flujo experimental y analítico necesario para obtener datos genómicos de alta calidad a partir de muestras de DNA humano. Para cumplir con los objetivos del presente contrato el adjudicatario deberá disponer de una infraestructura técnica consolidada y personal cualificado para desarrollar todas las fases del servicio de genotipado y secuenciación masiva y análisis posterior.

Lote 1 – Genotipado mediante un microarray de genotipado masivo de alta densidad

Será precisa la comprobación de la calidad del DNA mediante electroforesis en gel para comprobar su integridad y la ausencia de degradación, así como mediante espectrofotometría para evaluar su pureza. Estas comprobaciones son esenciales para asegurar que el material genético es apto para el proceso de genotipado y que no existen contaminantes que puedan interferir en la hibridación de los arrays.

Una vez validada la calidad de las muestras, el DNA se amplificará y se procederá a su fragmentación enzimática, precipitación y resuspensión, preparándolo para la hibridación sobre los beadchips del microarray siguiendo el protocolo estándar. El microarray deberá ser de alta densidad, y contener más de 654.000 marcadores repartidos por todo el genoma. El panel de marcadores genético deberá incluir más de 370.000 SNPs comunes, 100.000 SNPs de baja frecuencia y aproximadamente 69.000 SNPs raros, e incorporar 10.000 INDELs, y más de 1.000 marcadores mitocondriales. Esta diversidad y amplitud de cobertura es imprescindible para capturar el componente poligénico del riesgo asociado a los trastornos psiquiátricos. Además, el array debe de estar optimizado para una amplia representación poblacional y para estudios posteriores de imputación genómica de alta calidad. Además deberá contar con protocolos validados internacionalmente para el procesamiento automatizado de muestras, hibridación, detección y análisis de resultados, todo ello con el fin de incrementar la utilidad de los datos para estudios a gran escala y su integración con bases de datos de referencia globales.

Después del lavado, extensión y tinción, el array se escaneará utilizando un sistema automatizado de escaneo por láser de alta resolución. Este sistema debe de permitir una lectura precisa de las señales fluorescentes emitidas por cada marcador del chip.

Los datos obtenidos serán analizados mediante un software especializado de análisis genotípico que permita generar los archivos en formato estándar y calcular métricas de calidad como el *call rate* (que deberá ser igual o superior al 98%) y los *gencall scores*, asegurando así la fiabilidad de los genotipos obtenidos.

La entrega de resultados deberá incluir los archivos IDAT generados, los informes de control de calidad por muestra, y un archivo de genotipos con la información procesada de los marcadores analizados (archivo PLINK). Toda la información será entregada mediante transferencia segura cifrada. Los informes generados podrán estar redactados en castellano o inglés. No se admitirán cargos adicionales por licencias, informes, acceso o descarga de los datos derivados del servicio.

El adjudicatario deberá contar con un equipo técnico profesional con experiencia en tecnologías de microarrays y análisis de datos genómicos. El equipo deberá incluir personal con formación especializada y experiencia acreditada. El adjudicatario deberá garantizar también la comunicación de incidencias y seguimiento del proyecto durante toda su ejecución.

Lote 2 – Secuenciación del exoma completo (Whole Exome Sequencing, WES)

Se requerirá la verificación exhaustiva del DNA recibido con tal de garantizar su idoneidad para la secuenciación. Esta verificación deberá incluir un análisis de integridad y contaminación con RNA mediante análisis de fragmentos por electroforesis capilar, la evaluación de pureza (valores OD260/280 y OD260/230) mediante espectrofotometría y determinación de su concentración mediante técnicas estándar de cuantificación por fluorescencia. Estas comprobaciones iniciales son cruciales para asegurar que la cantidad de DNA es suficiente y está en buenas condiciones para los procesos posteriores de construcción de librerías y captura exómica. Se valorará la existencia de equipos adicionales de respaldo por si surgieran imprevistos técnicos.

También será necesario realizar la construcción de librerías de secuenciación a partir del DNA genómico fragmentado (150-250 pb), utilizando reactivos y protocolos estándar validados para investigación biomédica. Se deberá determinar la calidad y homogeneidad de estas librerías generadas para garantizar un buen rendimiento de la captura y la uniformidad de la cobertura de secuenciación utilizando técnicas de cuantificación por fluorescencia y análisis del tamaño de fragmentos mediante sistemas de electroforesis capilar automatizada para determinar la concentración y tamaño de los fragmentos.

La captura exómica se efectuará mediante el uso de sondas híbridas específicas para regiones codificantes del genoma humano, con una cobertura completa y eficiente del exoma humano reconocida para estudios de variación genética. Antes de secuenciar se determinará de forma precisa la concentración de las librerías capturadas.

Tras la preparación de las librerías, se procederá a la fase de clustering y secuenciación en plataformas de alto rendimiento que permitan generar lecturas paired-end de 150 pares de bases, una configuración que proporciona una alta precisión en el mapeo de las lecturas y en la posterior identificación de variantes. Esta tecnología permite alcanzar la cobertura de 100x requerida, asegurando una detección fiable de variantes genéticas en las regiones codificantes, incluso aquellas de baja frecuencia.

Una vez obtenidas las secuencias, el adjudicatario deberá realizar el análisis bioinformático de los datos generados. Este incluirá el control de calidad inicial, alineamiento de las lecturas contra el genoma de referencia humano (GRCh37/hg19 o superior), para determinar la profundidad y cobertura de la secuenciación, eliminación de duplicados, detección de duplicados, detección de variantes (SNVs, SNPs, CNVs, INDELs) y anotación.

La entrega de los resultados por muestra se realizará en los siguientes formatos: archivos FASTQ (lecturas brutas), archivos BAM/CRAM (lecturas alineadas), archivos VCF (variantes detectadas), informes de control de calidad y un informe técnico detallado que incluya metodología, incidencias y observaciones relevantes. Toda la información será entregada mediante transferencia segura cifrada. Los informes generados podrán estar redactados en castellano o inglés. No se admitirán cargos adicionales por licencias, informes, acceso o descarga de los datos derivados del servicio.

El adjudicatario deberá asignar un responsable del servicio, que actuará como interlocutor a efectos de todas las comunicaciones y requerimientos con el equipo investigador del proyecto, que se encargará de asegurar el buen funcionamiento del servicio durante el tiempo que se necesite.

6.- Plazo de vigencia del servicio (aplicable en ambos lotes)

El plazo de realización del servicio por parte del adjudicatario será de 6 meses a partir de la fecha de formalización del contrato o la que figure en este. Este periodo incluye todas las etapas del proceso: desde la recepción y control de calidad de las muestras de DNA, pasando por la secuenciación y análisis bioinformático, y hasta la entrega final de los resultados.

Cualquier modificación en el calendario deberá ser acordada entre el adjudicatario y el equipo investigador, sin que ello suponga una ampliación automática del plazo ni un incremento del coste.