ID DOCUMENT/ID DOCUMENTO: oDYg5HB12j
Verificación código: https://ae-seu.udl.cat/verifica

Universitat de Lleida

PLEC DE PRESCRIPCIONS TÈCNIQUES PER A LA PRESTACIÓ D'UN SERVEI DE SEQÜENCIACIÓ NGS DE LLIBRERÍA PROTEOGENÒMICA REVEAL

Expedient: 2026SER91

Eloi Garí

Director del SCT de Proteòmica i Genòmica

SIGNAT PER/FIRMADO POR	DATA SIGNATURA/FECHA FIRMA
Gari Marsol Eloi	26-11-2026 11:15:12

Document signat electrònicament/Documento firmado electrónicamente - Pl. de Víctor Siurana, núm. 1 - E-25003 Lleida - Tel.: +34 973 70 20 00

ID DOCUMENT/ID DOCUMENTO: oDYg5HB12j
Verificación código: https://ae-seu.udl.cat/verifica

ÍNDEX

Primera. Objecte del contracte Pàg. 2

Segona. Característiques del servei Pàg. 2

Tercera. Durada de la prestació del servei Pàg. 3

Quarta. Lloc de prestació Pàg. 3

Annex 1 Olink_Reveal_Library_Quality_Control_Instructions Pàg. 4

Annex 2 Olink_Reveal_Library_Sequencing_Instructions Pàg. 5

SIGNAT PER/FIRMADO POR	DATA SIGNATURA/FECHA FIRMA
Gari Marsol Eloi	26-11-2026 11:15:12

Document signat electrònicament/Documento firmado electrónicamente - Pl. de Víctor Siurana, núm. 1 - E-25003 Lleida - Tel.: +34 973 70 20 00

ID DOCUMENT/ID DOCUMENTO: oDYg5HB12j
Verificación código: https://ae-seu.udl.cat/verifica

Primera. Objecte del contracte

El Servei Cientificotècnic de Proteòmica i Genòmica (SCTPG) disposa de la certificació de l'empresa Olink per oferir el servei de proteogenòmica basat en la metodologia Olink Reveal. Aquesta tècnica es basa en el Proximity Extension Assay (PEA), en la qual parells d'anticossos conjugats amb oligonucleòtids reconeixen específicament les proteïnes diana. Després de la fase PEA, es generen llibreries de DNA que han de ser quantificades mitjançant seqüenciació massiva (NGS). El sistema permet l'anàlisi simultània, en 86 mostres, de més de 1.000 proteïnes (aproximadament 1.034 biomarcadors) a partir d'un volum molt reduït de mostra (4µL), mitjançant la seqüenciació dels codis de barres moleculars generats durant el procés PEA.

L'objecte del contracte és la prestació del servei de seqüenciació massiva de nova generació (Next Generation Sequencing, NGS) de les llibreries generades pel SCTPG per a l'anàlisi proteòmica d'alt rendiment.

L'objecte del contracte inclourà la recepció de la llibreria proteogenòmica preparada pel SCTPG, el control de qualitat de la llibreria, la seva seqüenciació mitjançant plataformes NGS i el lliurament de les dades generades per a la seva posterior anàlisi per part del servei.

Segona. Característiques del servei

Els serveis licitats hauran d'incloure:

1. **La recepció de la llibreria:** l'entitat subministradora del servei haurà de fer una recepció adequada de l'enviament de la llibreria proteogenòmica. Confirmar les condicions d'estanquitat i fred de les mostres rebudes.

2. **El control de qualitat de la llibreria proteogenòmica Reveal (LQC):** tot i que les llibreries hauran passat el control de qualitat (LQC) abans de ser enviades per a la seva seqüenciació, serà necessari que el proveïdor del servei realitzi el LQC per verificar que aquesta no s'ha vist alterada durant l'enviament. Degut a la naturalesa de la llibreria, el LQC s'haurà de realitzar conforme a les indicacions del document *Olink_Reveal_Library_Quality_Control_Instructions.pdf* per motius de compatibilitat amb la infraestructura actual, detallats a la memòria justificativa que es proporcionarà des del nostre servei. Abans de procedir amb la seqüenciació de la llibreria, s'haurà d'enviar al nostre servei tant l'arxiu amb les dades òptiques com l'informe de resultats del LQC per a la seva verificació.

3. **La seqüenciació NGS de llibreries proteogenòmiques Reveal:** Donada la naturalesa de la llibreria, aquesta seqüenciació s'haurà de fer en funció de les indicacions del document *Olink_Reveal_Library_Sequencing_Instructions.pdf* que es proporcionarà des del nostre servei per tal de garantir resultats equivalents en termes de nombre de lectures, reproductibilitat i capacitat de detecció (aproximadament 1.000 milions de lectures per llibreria de 86 mostres, per obtenir una cobertura adequada de totes les dianes proteiques incloses a la llibreria proteogenòmica).

SIGNAT PER/FIRMADO POR	DATA SIGNATURA/FECHA FIRMA
Gari Marsol Eloi	26-11-2026 11:15:12

Document signat electrònicament/Documento firmado electrónicamente - Pl. de Víctor Siurana, núm. 1 - E-25003 Lleida - Tel.: +34 973 70 20 00
Universitat de Lleida

ID DOCUMENT/ID DOCUMENTO: oDYg5HB12j
Verificación código: https://ae-seu.udl.cat/verifica

4. **El lliurament de les dades generades:** en aquesta part es consideren dos aspectes. Per una banda, els formats de les dades de seqüenciació requerides per l'anàlisi varien en funció del seqüenciador emprat, i estan indicades al document *Olink_Reveal_Library_Sequencing_Instructions.pdf.* Per un altra banda, el lliurament d'aquestes dades al SCTPG s'haurà de fer de manera que quedi garantida la seva integritat i traçabilitat, així com la seva confidencialitat. Això inclou plataformes segures de descàrrega com servidors SFTP, claus privades, plataformes Cloud de grau científic o equivalents i còpies de seguretat.

5. **Termini de prestació del servei:** el termini màxim de prestació del servei, des de la recepció de mostres fins l'entrega de les dades de seqüenciació, ha de ser com a màxim de 4 setmanes.

Tercera. Durada de la prestació del servei

L'objecte del contracte s'executarà des de l'endemà de la data de la signatura del contracte fins a completar un any. A més, es preveu la possibilitat de dues pròrrogues d'una durada d'un any cadascuna (1+1).

La formalització del contracte es preveu durant l'inici de l'any 2027.

Quarta. Lloc de prestació del servei

El punt de lliurament i la persona de contacte son els següents:

En atenció de Isabel Sánchez Telèfon: 973702477

Campus Ciències de la Salut

Edifici Biomedicina, mòdul 2, 4a planta, b4.20.

C/ Rovira Roure, 80, CP 25198, Lleida

SIGNAT PER/FIRMADO POR	DATA SIGNATURA/FECHA FIRMA
Gari Marsol Eloi	26-11-2026 11:15:12

Document signat electrònicament/Documento firmado electrónicamente - Pl. de Víctor Siurana, núm. 1 - E-25003 Lleida - Tel.: +34 973 70 20 00

ID DOCUMENT/ID DOCUMENTO: oDYg5HB12j
Verificación código: https://ae-seu.udl.cat/verifica

Annex 1 Olink_Reveal_Library_Quality_Control_Instructions

Quality control

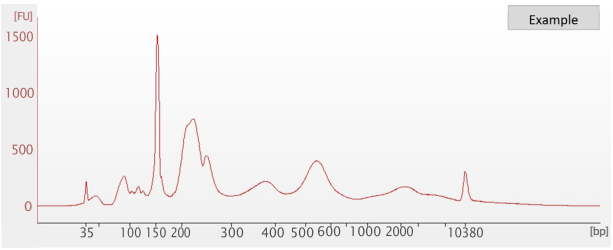
Prepare bench

- 2100 Bioanalyzer with High Sensitivity DNA Kit.
- 4200 TapeStation with High Sensitivity D1000 ScreenTape assay.
- Unless sequencing with an Illumina instrument: Qubit with 1x dsDNA HS Assay Kit.

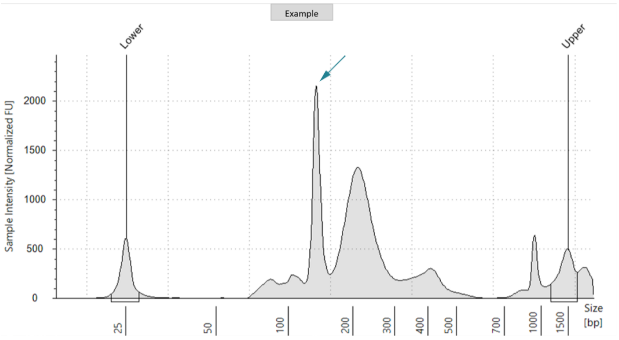
Quality control

1. Run the library on the 2100 Bioanalyzer (High Sensitivity DNA Kit) or the 4200 TapeStation (High Sensitivity D1000 Screen Tape) according to the manufacturer's instructions.
2. Check that the resulting electropherograms display a single or double peak at around 150 bp. Peaks of larger sizes represent bubble products and do not impact sequencing results.

Electropherograms Bioanalyzer



Electropherograms TapeStation



3. Quantify library concentration on the Qubit (1x dsDNA HS Assay Kit) according to the manufacturer's instructions.

NOTE: Library quantification is not required when sequencing on Illumina sequencers where fixed dilution of libraries is used. Sequencing on other sequencers uses library conversion, which requires quantification.

SIGNAT PER/FIRMADO POR	DATA SIGNATURA/FECHA FIRMA
Gari Marsol Eloi	26-11-2026 11:15:12

Document signat electrònicament/Documento firmado electrónicamente - Pl. de Víctor Siurana, núm. 1 - E-25003 Lleida - Tel.: +34 973 70 20 00
Universitat de Lleida

ID DOCUMENT/ID DOCUMENTO: oDYg5HB12j
Verificación código: https://ae-seu.udl.cat/verifica

Annex 2 Olink_Reveal_Library_Sequencing_Instructions

Illumina sequencing

The procedure for sequencing on the Illumina sequencers described below is intended for users who are already familiar with the method. Please refer to the manufacturer's instruction for full details.

Before you start

1. Transfer the required Olink custom recipe to the sequencer in advance. To obtain the custom recipe, please contact support@olink.com.
2. Install ngs2counts, based on the document NPX™ Map Preprocessing Technical Information.

Dilute libraries

3. Dilute the libraries based on the flowcell intended for use. Use the recommended dilution with either Milli-Q water or resuspension buffer (RSB, provided by Illumina) given in the table. This step replaces the library dilution in the manufacturer's instructions. When diluting libraries, the volume of purified library used should be at least 4 µL.

Sequencer	Flowcell	Dilution	Dilution buffer	Sequencer control software	Custom recipe
Illumina NextSeq 2000	P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (50 cycles)	1:100 and then 1:8	RSB	v1.7 - v2.0	Olink_NSQ2K_P4_V2
Illumina NovaSeq X or NovaSeq X Plus	1.5B Reagent Kit (100 cycles)	1:300	Milli-Q water	v.1.3.x	Olink_NovaSeqX_1.5B_1Lib_V4
	1.5B Reagent Kit (100 cycles)	1:300	Milli-Q water	v1.4	Olink_NovaSeqX_1.5B_1Lib_V5
	10B Reagent Kit (100 cycles)	1:300	Milli-Q water	v.1.3.x	Olink_NovaSeqX_10B_8Lib_V4
	10B Reagent Kit (100 cycles)	1:300	Milli-Q water	v1.4	Olink_NovaSeqX_10B_8Lib_V5
Illumina NovaSeq 6000	S1 Reagent Kit v1.5 (100 cycles)	1:350	Milli-Q water	v1.8	Olink_NovaSeq6K_STND_SP_S1_V1
	S4 Reagent Kit v1.5 (35 cycles) with XP loading	1:350	Milli-Q water	v1.8	Olink_NovaSeq6K_XP_S4_V2

4. Following the corresponding manufacturer's instructions on the next steps to denature and load the libraries on to the flowcell. One individual library is added to each lane of the flowcell, except for NovaSeq X 1.5B and NovaSeq 6000 S1 flowcells, where the same library is loaded on both lanes.

IMPORTANT: The cycle numbers for all custom recipes are 24-0-0-0. Entering different cycles will lead to catastrophic loss of data. Warnings in the Illumina software that cycles have to be set to 26 or above should be ignored.

NOTE: The use of PhiX is not required.

SIGNAT PER/FIRMADO POR	DATA SIGNATURA/FECHA FIRMA
Gari Marsol Eloi	26-11-2026 11:15:12

Document signat electrònicament/Documento firmado electrónicamente - Pl. de Víctor Siurana, núm. 1 - E-25003 Lleida - Tel.: +34 973 70 20 00
Universitat de Lleida

ID DOCUMENT/ID DOCUMENTO: oDYg5HB12j
Verificación código: https://ae-seu.udl.cat/verifica

MGI sequencing

The procedure for sequencing on MGI™ DNBSEQTM-G400 with the FCL SE50 flow cell (MGI Cat. No. 940-001804-00) or MGI™ DNBSEQTM-T1+ with the FCL SE50 flow cell (MGI Cat. No. 940-002572-00) described below is intended for users who are already familiar with these instruments. Please refer to the manufacturer's instructions for full details.

Library conversion

Olink™ Reveal has been verified on the MGI G400 (1 library per flow cell) and T1+ sequencers (2 libraries per flow cell). Libraries are converted using the MGIEasy Olink Library Circularization kit (MGI Cat. No. 940-001919-00).

1. Quantify Olink™ Reveal libraries with a Qubit 1x dsDNA HS Assay Kit (ThermoFisher).
2. Set up multiple circularization reactions in 0.2 ml PCR tubes with 60 ng Reveal library each.

Sequencer	Circularization reactions	Total amount of library
G400	2	120 ng
T1+	3	180 ng

3. Phosphorylate, circularize, digest and purify according to the manufacturer's instructions.
4. Quantify the purified, circularized ssDNA library in each reaction with a Qubit ssDNA Assay Kit (ThermoFisher) and confirm that the concentration exceeds 0.6 ng/µL.
5. Pool individual circularization reactions in one 1.5 mL tube per library.

DNB preparation and sequencing

1. Proceed with DNB preparation following the instructions in the sequencing kit manual, using the quantities specified in the table below.

Sequencer	Reaction volume	Number of DNB reactions	ssDNA amount per reaction
G400	100 µL	2 (to load 4 lanes)	8 ng
T1+	100 µL	2 (to load 2 lanes)	10 ng

NOTE: When running a single library on the T1+, perform additional DNB reactions to enable loading the same library across all four lanes.

2. Load a single Reveal library on all four lanes of a G400 FCL flow cell. The T1+ has sufficient output to sequence two libraries per FCL flow cell by adding each library to two individual lanes.
3. When setting up the run protocol on the sequencer, generate a custom sequencing protocol for Olink™ products using the following settings:
   - **Read1**: enter 66.
   - **Read2, Barcode** and **Dual Barcode:** Leave these fields empty.
   - **Dark reaction cycles**:
     - For **Read1:** enter 9-28, 37-58.
     - For **Read2:** Leave empty.

SIGNAT PER/FIRMADO POR	DATA SIGNATURA/FECHA FIRMA
Gari Marsol Eloi	26-11-2026 11:15:12

Document signat electrònicament/Documento firmado electrónicamente - Pl. de Víctor Siurana, núm. 1 - E-25003 Lleida - Tel.: +34 973 70 20 00
Universitat de Lleida

ID DOCUMENT/ID DOCUMENTO: oDYg5HB12j
Verificación código: https://ae-seu.udl.cat/verifica

IMPORTANT: Entering different cycles for reads or dark reaction cycles will lead to catastrophic loss of data.

4. After sequencing, assign FASTQ files from different lanes to individual Olink™ Reveal libraries and preprocess using the **Preprocess data** function in the NPX Map software.

SIGNAT PER/FIRMADO POR	DATA SIGNATURA/FECHA FIRMA
Gari Marsol Eloi	26-11-2026 11:15:12

Document signat electrònicament/Documento firmado electrónicamente - Pl. de Víctor Siurana, núm. 1 - E-25003 Lleida - Tel.: +34 973 70 20 00
Universitat de Lleida

ID DOCUMENT/ID DOCUMENTO: oDYg5HB12j
Verificación código: https://ae-seu.udl.cat/verifica

Element Biosciences AVITI™ sequencing

The procedure for next-generation sequencing with an AVITI™ or AVITI24™ sequencer is intended for users who are familiar with the method. Olink Reveal is compatible with the Element 2x75 Sequencing Kit Cloudbreak FS High Output (Element Biosciences Catalog # 860-00015). Libraries sequenced on Element should be processed with NPX Map according to the NPX™ Map Software User Manual.

Please refer to the Cloudbreak™ Sequencing User Guide (Element Biosciences) for full instructions.

Before you start

1. Quantify the concentration of the library on a Qubit using the dsDNA HS Assay-Kit according to the manufacturer's instructions.
2. Convert measured library concentration to pM using a Reveal library size of 150 bp.
   Do not use the average library size derived from the full Bioanalyzer or TapeStation trace.

Formula for concentration conversion:

- nM concentration = (ng/ul value from Qubit) / (150 bp x 660 g/mol) x 10^6
- Example: 10 ng/ul Olink library is equivalent to 10/(150 x 660) x 10^6 = 101 nM.

Prepare libraries and configure the sequencing run

1. Prepare libraries for Cloudbreak FS sequencing according to the manufacturer's instructions. The following loading concentrations need to be used. Increased concentrations can cause higher CVs.

Instrument version	Loading concentration
AVITI	5.5 pM
AVITI24	4.0 pM

NOTE: No custom primers are needed. Steps related to sequencing with custom primers can be skipped. Olink Reveal libraries are sequenced without PhiX spike-in.

2. Configure the sequencing run according to the manufacturer's instructions. Enter 67, 0, 0, 0 (read 1, read 2, index 1, index 2) when prompted to define the number of cycles in each read.

IMPORTANT: Select **Element short insert recipe** under **Advanced Run Settings**.

IMPORTANT: **Do not** use the "Low-Diversity High-Multiplex" option when defining run parameters. This option in incompatible with Olink Reveal libraries.

3. Sequencing data can be directly preprocessed in NPX Map according to the NPX™ Map Software User Manual.

SIGNAT PER/FIRMADO POR	DATA SIGNATURA/FECHA FIRMA
Gari Marsol Eloi	26-11-2026 11:15:12

Document signat electrònicament/Documento firmado electrónicamente - Pl. de Víctor Siurana, núm. 1 - E-25003 Lleida - Tel.: +34 973 70 20 00
Universitat de Lleida

ID DOCUMENT/ID DOCUMENTO: oDYg5HB12j
Verificación código: https://ae-seu.udl.cat/verifica

Ultima Genomics sequencing

The procedure for sequencing Olink™ Reveal on the Ultima Genomics UG100 described below is intended for users who are already familiar with these instruments. Please refer to the manufacturer's instructions for full details.

Library conversion

Up to 10 Olink™ Reveal libraries can be sequenced on a single UG100 wafer at a time. Libraries that will be sequenced on the same wafer will need t be indexed with distinct Ultima indexing primers. Please follow the manufacturer's instructions (D1001055 - UG Indexing PCR Library Preparation Protocol for Solaris Flex) for indexing and library conversion. Briefly:

1. Quantify Olink™ Reveal libraries with a Qubit 1x dsDNA HS Assay Kit (ThermoFisher)
2. Perform indexing and amplification PCR using a compatible mastermix:
   - 20 µL Olink™ Reveal library diluted to ~0.5 ng / µL in Milli-Q water
   - Select one xGen™ Indexing Primer v2 for Ultima per Olink library. 4 unique primer plates in 96-well format are available from IDT (IDT product number: 10028412-10028415)
   - xGen™ Universal R Primer for Ultima (IDT product number 10028400)
3. Clean up amplified libraries with 1.5x sample volume of AMPure XP beads
4. Elute the library from the beads in 150 µL elution buffer
5. QC the libraries using the 2100 Bioanalyzer (High Sensitivity DNA Kit) or the 4200 TapeStation (High Sensitivity D1000 Screen Tape) and quantify with a Qubit 1x dsDNA HS Assay Kit. Calculate the molar concentration (pM) based on the size of the library peak at 150 nt (see Ultima manual for conversion equation).

Library pooling and sequencing

1. To create an Ultima Sample Sheet proceed as follows based on the software version of your sequencer:
   - For versions 1.8.5 and below, create a sample sheet listing library names and barcodes using the UG_54cycles_Baseline_* sequencing recipe according to D1001120 – UG Sample Sheet Reference Guide (Ultima).
   - For versions 1.9.0 and above, create a sample sheet listing library names and barcodes using the application Olink Reveal according to D1001358 – UG Sample Sheet and Sample DB Reference Guide for Application Based Workflows (Ultima).
2. Pool up to 10 converted Olink™ Reveal libraries to a total concentration of 600-800 pM in 600 µL Milli-Q water according to the D1001316 - Library QC and Pooling Reference Guide (Ultima)
3. Follow the instructions in D1001098 - User Quick Reference Guide – UG 100 Solaris Flex Workflow (Ultima) to perform pre-amplification, amplification, and sequencing workflows.
4. After sequencing, the UG100 output will be automatically processed with the Trimmer software (Ultima) to provide a hist.csv file.
5. Preprocess the trimmer output in NPX Map according to the NPX™ Map Software User Manual. Please use an unedited Ultima output folder as input for preprocessing.

SIGNAT PER/FIRMADO POR	DATA SIGNATURA/FECHA FIRMA
Gari Marsol Eloi	26-11-2026 11:15:12

Document signat electrònicament/Documento firmado electrónicamente - Pl. de Víctor Siurana, núm. 1 - E-25003 Lleida - Tel.: +34 973 70 20 00
Universitat de Lleida