

**FORNITURA DEL SERVIZIO DI GENOTIPIZZAZIONE DI 22 SPECIE FORESTALI  
MEDIANTE SEQUENZIAMENTO DI NUOVA GENERAZIONE PER LE ESIGENZE  
DELL'ISTITUTO DI BIOSCIENZE E BIORISORSE, CONSIGLIO NAZIONALE DELLE  
RICERCHE**

**CAPITOLATO TECNICO**

**CPV: 71900000-7 - Servizi di laboratorio**

## 1. OGGETTO

La presente iniziativa di gara ha ad oggetto il servizio di genotipizzazione mediante sequenziamento di nuova generazione per le esigenze dell'Istituto di Bioscienze e Biorisorse – Consiglio Nazionale delle Ricerche (IBBR-CNR). Nello specifico tale acquisto rientra nell'ambito del progetto “Improving access to FORest GENetic resources Information and services for end-USers” (FORGENIUS), finanziato dal Programma Quadro dell'Unione Europea Horizon 2020 (H2020).

Sono parte integrante del servizio le seguenti prestazioni:

- a) Sviluppo di un esperimento di Genotyping-By-Sequencing (GBS) che ci permetta di sequenziare 10000 (diecimila) loci per ciascuna delle seguenti 22 specie arboree forestali: *Abies alba*, *Abies nebrodensis*, *Betula pendula*, *Castanea sativa*, *Fagus sylvatica*, *Fraxinus excelsior*, *Malus sylvestris*, *Picea abies*, *Pinus halepensis*, *Pinus nigra*, *Pinus pinaster*, *Pinus sylvestris*, *Populus alba*, *Populus nigra*, *Prunus avium*, *Quercus ilex*, *Quercus petraea*, *Quercus pubescens*, *Quercus robur*, *Quercus suber*, *Sorbus torminalis* e *Taxus baccata*. Ogni locus sequenziato dovrà avere una dimensione minima di 250 bp. Inoltre, per alcune delle specie, 5000 (cinquemila) loci dovranno corrispondere a posizioni genomiche per le quali IBBR ha già ottenuto dati di sequenziamento in precedenti progetti ed includere dei polimorfismi a singolo nucleotide di interesse, mentre i restanti 5000 (cinquemila) loci dovranno essere scelti casualmente e distribuiti in modo uniforme lungo l'intero genoma/trascrittoma.
- b) controllo della qualità del DNA in maniera totalmente casuale su almeno il 10% dei campioni inviati da IBBR;
- c) sequenziamento del DNA, controllo qualità delle sequenze prodotte e generazione delle sequenze in formato fastQ;
- d) allineamento delle sequenze ai corrispondenti genomi o trascrittomi di riferimento delle stesse specie o di specie affini e generazione dei files BAM;
- e) identificazione di tutti i polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) presenti nei loci sequenziati e generazione di un file VCF (Variant Call Format) per ciascuna specie sequenziata;
- f) consegna dei files .fastq, .bam e .vcf;
- g) servizio di assistenza tecnico-scientifica fornito dal Referente del servizio nell'arco di tutta la durata degli esperimenti.

## 2. LUOGO DI ESECUZIONE DEL SERVIZIO

I campioni di DNA dovranno essere sequenziati, di volta in volta, secondo le richieste di IBBR presso il laboratorio del Fornitore come specificato al successivo punto 4.

## 3. FABBISOGNO E CARATTERISTICHE SPECIFICHE DEL SERVIZIO

### 3.1. QUANTITA' DI CAMPIONI OGGETTO DEL SERVIZIO

La realizzazione di tale Accordo Quadro ha come finalità la genotipizzazione mediante sequenziamento di nuova generazione di circa 7000 (settemila) campioni di DNA di 22 diverse

specie arboree forestali, in numero variabile sulla base delle effettive necessità dettate dal progetto di ricerca.

Tenuto conto della notevole variabilità delle modalità con le quali è possibile raggiungere gli obiettivi scientifici del progetto FORGENIUS e trattandosi di un settore caratterizzato da tecnologie soggette a notevole evoluzione, le quantità stimate non costituiscono un minimo o un massimo d'ordine che IBBR si impegna ad acquistare. L'importo contrattuale presunto, quindi, potrà subire modificazioni in diminuzione senza che il Fornitore possa vantare pretese, penalità, indennizzi, risarcimenti o quant'altro, non costituendo per il Fornitore un minimo contrattuale garantito.

Fatto salvo quanto sopra previsto, entro la scadenza dell'Accordo Quadro, IBBR si riserva la possibilità di aggiungere ulteriori unità di campioni da processare al fine di soddisfare ulteriori esigenze che dovessero emergere nel corso della durata dell'Accordo Quadro, fino a concorrenza dell'importo contrattuale.

### **3.2. CARATTERISTICHE MINIME DEL SERVIZIO**

Il Fornitore si impegna ad effettuare il sequenziamento del DNA secondo le seguenti caratteristiche.

- a) Sequenziamento mediante tecnologia Illumina su piattaforma NovaSeq 6000, garantendo una capacità di caricamento per lane di 1536 campioni;
- b) modalità di sequenziamento paired-end con letture di lunghezza 150bp;
- c) sequenziamento con resa di più del 90% delle basi con qualità minima Q30;
- d) le sequenze generate devono essere fornite in formato fastQ e allineate ai genomi/trascrittomi di riferimento al fine di produrre i files in formato BAM;
- e) almeno l'80% dei loci dovranno avere una copertura media minima di 50X e, per ogni specie, i polimorfismi a singolo nucleotide presenti nei loci dovranno essere identificati ed elencati in un file VCF.

IBBR in corso di esecuzione si riserva di apportare modifiche al contratto ai sensi di quanto previsto dall'art. 106 co. 12 del D.Lgs. 50/2016

### **3.3 ASSISTENZA TECNICO-SCIENTIFICA**

Al fine di garantire la qualità del servizio il Fornitore dovrà avere già maturato esperienza nella produzione e analisi di dati di GBS in specie arboree, dimostrabile con pubblicazioni scientifiche e/o partecipazione a progetti di ricerca. Inoltre, per facilitare l'organizzazione, il Fornitore dovrà mettere a disposizione di IBBR un Referente del servizio, suo dipendente che parli italiano fluente e che sia adeguatamente formato al fine di fornire un supporto tecnico-scientifico per:

- identificare la tecnologia di genotipizzazione più adeguata alle esigenze di IBBR;
- assistere IBBR nella fase di preparazione dei campioni da inviare;
- ogni altra necessità attinente alla corretta esecuzione del contratto.

Anche IBBR dovrà individuare uno o più referenti del servizio al fine di facilitare la comunicazione tra le parti. L'elenco dei nominativi dei referenti IBBR con i relativi contatti (telefonici e e-mail), saranno comunicati dal RUP al Referente del servizio per il Fornitore prima dell'avvio del servizio.

#### **4. MODALITA' DI ESECUZIONE DEL SERVIZIO**

L'esecuzione del servizio prevede 6 fasi che sono di seguito descritte.

1) Sviluppo della strategia di GBS.

Il Fornitore dovrà occuparsi dello sviluppo di un esperimento di GBS che consenta il sequenziamento di un totale di circa 10000 loci per ciascuna delle 22 specie. Per alcune specie il Fornitore riceverà da IBBR una lista di regioni di interesse che includono delle posizioni polimorfiche identificate in studi precedenti e che dovranno essere incluse nei 10000 loci selezionati.

2) Invio campioni di DNA.

IBBR invierà di volta in volta i campioni di DNA al Fornitore per il servizio di sequenziamento.

3) Controllo qualità sui campioni di DNA.

Il Fornitore eseguirà dei test random sulla qualità dei campioni di DNA forniti da IBBR. In caso di eventuali difformità, il fornitore si impegna a comunicarle al Referente del servizio di IBBR entro e non oltre 3 giorni lavorativi dalla data di ricezione dei campioni, fornendo la consulenza necessaria su come risolvere le eventuali difformità, onde giungere ad un sequenziamento adeguato per i campioni successivi.

4) Sequenziamento dei campioni.

I campioni inviati da IBBR, che risultano conformi rispetto ai controlli del punto precedente, verranno sequenziati rispettando i criteri minimi di cui al par. 3.2 del presente Capitolato tecnico. Ai fini della fatturazione verranno conteggiati solo i campioni effettivamente sequenziati.

5) Analisi bioinformatica.

Una volta terminato il sequenziamento dei campioni, il Fornitore dovrà provvedere all'analisi bioinformatica al fine di allineare le sequenze ai genomi/trascrittomi di riferimento e identificare i polimorfismi a singolo nucleotide presenti nei 10000 loci.

6) Consegna dei risultati.

Il Fornitore dovrà provvedere alla consegna dei file in formato fastQ, BAM e VCF tramite accesso a server remoto, criptato e protetto da password. Il fornitore si impegna a conservare copia dei file in formato fastQ per 12 mesi dalla data di consegna.

I tempi di sequenziamento e il conseguente invio dei risultati non dovranno superare i 30 giorni lavorativi dalla data di ricezione dei campioni. Resta inteso che tutti i costi connessi alle 6 fasi sopra descritte, tranne la fase 2 ("Invio campioni di DNA"), sono a carico del Fornitore.

#### **5. AVVIO DEL SERVIZIO E VERIFICHE SULL'ESECUZIONE DEL CONTRATTO**

L'avvio del servizio avverrà in una data successiva alla stipula del contratto, indicata nel verbale di avvio dell'esecuzione firmato dal RUP. Resta salva la facoltà da parte di IBBR, di ordinare l'avvio dell'esecuzione del contratto nelle more della stipula dello stesso ai sensi dell'art. 32, comma 8, del D.Lgs. 50/2016 mediante comunicazione del RUP.

L'esecuzione del servizio è soggetta a verifica di conformità al fine di accertarne la regolare esecuzione rispetto a quanto prescritto nel presente Capitolato tecnico e nell'ulteriore documentazione di gara, nonché l'adempimento degli impegni assunti dal Fornitore. Tali controlli verranno effettuati da IBBR, per tutta la durata del contratto, dai Referenti, dal RUP o da altro personale, di volta in volta, entro 30 giorni naturali dal ricevimento dei campioni sequenziati. È fatta salva la possibilità di effettuare controlli a campione con modalità comunque idonee a garantire la verifica della corretta esecuzione contrattuale. Nello specifico le verifiche potranno essere effettuate sia sui campioni sequenziati, sia tramite accertamento documentale. Sarà onere del Fornitore fornire tempestivamente tutte le informazioni richieste, affinché le citate verifiche possano essere espletate nel migliore dei modi.

Al positivo completamento delle attività di verifica, verrà redatto un apposito verbale. La mancata conformità delle prestazioni contrattuali impegna il Fornitore alla ripetizione di suddette prestazioni senza alcun onere aggiuntivo a carico di IBBR.