

**ПРИЛОЖЕНИЕ № 1**

**ПЪЛНО ОПИСАНИЕ НА ПРЕДМЕТА НА ПОРЪЧКАТА**

**I.Предмет на поръчката:** „Доставка на материали, химикали и консумативи за нуждите на Лаборатория по Геномна Диагностика към ЦММ, Катедра по Медицинска Химия и Биохимия, МФ, Медицински университет -София по 6 обособени позиции" описани подробно, както следва:

**ОБОСОБЕНА ПОЗИЦИЯ № 1. Реактиви за следващо поколение секвениране**

<b>№</b>	<b>Наименование/артикули/ - описание /спецификация/</b>	<b>Количество</b>
<b>1.</b>	<b>Реактиви за следващо поколение секвениране</b>	
<b>1.1.</b>	Кит за секвениране на около 62 000 екзона в над 4800 гена свързани в клинични заболявания с масово-паралелно секвениране за 9 проби, включващ всички реактиви за обогатяване и приготвяне на библиотеки от не повече от 50 нанограма стартово количество ДНК и всички реактиви за секвениране чрез синтеза с флуоресцентно белязани нуклеотиди, осигуряващ данни за не по-малко от 7,5 гига бази на експеримент и възможност за секвениране от двата края на фрагмента към средата	<b>2 бр.</b>
<b>1.2.</b>	Праймери за подготовка на библиотеки на около 1700 таргетни екзона в 94 гена в общ таргетен регион от 255 КВ, свързани с предразположеност към ракови заболявания, за масово-паралелно секвениране – реактиви за 4 обогатявания, всяко по 12 проби	<b>1 бр.</b>
<b>1.3.</b>	Кит за подготовка и индексване на библиотеки – включващ всички реактиви за приготвянето на библиотеките. Съдържащ 24 индекса и реактиви за 48 проби. Китът да е съвместим с праймерите за подготовка на библиотеки на около 1700 таргетни екзона в 94 гена в общ таргетен регион от 255 КВ, свързани с предразположеност към ракови заболявания.	<b>1бр.</b>
<b>1.4.</b>	Кит за секвениране за MiSeq апарат с капацитет 1 200 Mb (300 cycles), включващ всички реактиви за генериране на клъстери и секвениране чрез синтеза – флоу клетка и касета с аликвотирани реактиви	<b>4 бр.</b>
<b>1.5.</b>	Кит за количествено определяне на библиотеки, подготвени за секвениране Illumina NGS секвенатори, съдържащ 6 стандарта с концентрация от 0.0002 до 20 pM ( 80 ul всеки), специфични праймери комплементарни на адапторната секвенция на готовите библиотеки за секвениране на Иллумина секвенатори (1 мл) и мастър микс със SYBR green (5 мл). 500 реакции/опакровка	<b>1 оп.</b>
<b>1.6.</b>	Кит за секвениране за MiSeq апарат с капацитет 4 500 Mb (300 cycles), включващ всички реактиви за генериране на клъстери и секвениране чрез синтеза – флоу клетка и касета с аликвотирани реактиви	<b>2 бр.</b>

1.7.	Кит за секвениране за MiSeq апарат с капацитет 15 000 Mb (600 cycles), включващ всички реактиви за генериране на клъстери и секвениране чрез синтеза – флоу клетка и касета с аликвотирани реактиви	1 бр.
1.8.	Готова контролна библиотека съдържаща генома на бактериофаг PhiX, подходяща за директно секвениране върху Illumina NGS секвенатори.	1 бр.
1.9.	Филтърна плака за селектиране по размер и промиване на ДНК проби, съвместима с кита за приготвяне на библиотека за новогенерационно секвениране, 1брой/ опаковка	4 оп.
1.10.	Набор от 400 поръчкови праймери за фрагментен анализ и директно секвениране на ДНК, без HPLC пречистване, 200 pmol scale, средно по 20 бази дължина на праймера	1 оп.
1.11.	96-ямкови 1 мл плаки с кръгло дъно съвместими с филтърните плаки от кита за приготвяне на библиотеките; 50 броя/ опаковка	1 оп.
1.12.	Етанол, абсолютен, MB grade, 1000 мл/ опаковка	3 оп.

**ОБОСОБЕНА ПОЗИЦИЯ № 2. Реактиви за изолиране и анализиране на ДНК със секвенатор AB3130xl**

№	Наименование/артикули/ - описание	Количество
2.	<b>Реактиви за изолиране и анализиране на ДНК със секвенатор AB3130xl</b>	
2.1.	Кит за изолиране на ДНК от човешка кръв с обем до 10 мл., подходящ за Chemagic MSM I -12 Rod Head, време за изолиране до 60мин., добив 150 - 300 мкг ДНК, за 250 проби/ опаковка	1 оп.
2.2.	Кит съдържащ всички компоненти за количествена конверсия на до 2 µg тотална РНК до единично верижна кДНК в единична 20 µL-ва реакция. Да включва също 2 епендорфки RNase inhibitor (100 µL всяка). Да дава възможност за получаване на високо качествена едно верижна кДНК от 0.02 до 2 µg тотална РНК. Реакциите да могат да бъдат изчислени за до 100 µL за генериране на 10 µg кДНК от една реакция. Полученият краен продукт да е 7 kb или по-малко. 200 реакции/ опаковка	1 оп.
2.3.	Кит за високо чувствително количествено измерване на двойноверижна ДНК, високо селективен за двойно-верижна ДНК (dsDNA) над РНК и точен за начални концентрации от 10 pg/µL до 100 ng/µL; с количествен обхват- 0.2-100 ng. Китът да включва dsDNA HS реагент, HS буфер, HS стандарт #1 и dsDNA HS стандарт #2 в TE буфер. Да е съвместим с Qubit® 1.0, Qubit® 2.0 и Qubit® 3.0. 100 р-ии/ опаковка	2 оп.

2.4.	Епруветки за Qubit® Fluorometer с тънки стени, полипропиленови с обем 0,5 мл., 500 броя/ опаковка	1 оп.
2.5.	ДНК полимераза- рекомбинантна ДНК полимераза изолирана от <i>Thermococcus species KOD</i> с поправяща (3'→5' екзонуклеазна) активност. С антицяло технология осигуряваща лесен, автоматичен hot-start метод, подобряващ PCR специфичността. С включен 10X PCRx Enhancer разтвор. Да притежава следните характеристики: 26 пъти по-висока точност отколкото Taq ДНК полимеразите, да амплифицира фрагменти до 12 kb; да позволява подготовка на реакциите на стайна температура. 100 реакции/ опаковка	1 оп.
2.6.	Taq полимераза със следните свойства: да притежава горещ старт предоставен от термолабилни моноклонални антитела, да притежава нематрично зависима терминална трансферазна активност, която да добавя 3' deoxyadenosine към края на продукта и 5'→3' екзонуклеазна активност (но не и 3'→5' екзонуклеазна активност); възможност за приготвяне на PCR реакциите на стайна температура, размер на продуктите—до 10 kb. 100 реакции/ опаковка	1 оп.
2.7.	Кит за ДНК секвениране на PCR продукти, едноверижна ДНК, бактериална геномна ДНК и други на базата на белязани с флуоресцентни багрила дидезоксинуклеотиди, съдържание: готов реакционен микс от термостабилна полимераза и dNTPs/ddNTPs в съотношение оптимизирано за четене на дълги PCR продукти(>500bp); ДНК матрица; праймер за контрол на секвенционната реакция и 5x секвенционен буфер. Китът да бъде подходящ за de novo и ресеквениране, оптимизиран за AT и CG богати региони, химия съвместима със софтуеъра и калибрационните протоколи на секвенатор AB3130x1, 100 р-ии/ опаковка	11 оп.
2.8.	5x Sequencing Buffer, оптимизиран за използване с кит за ДНК секвениране на секвенатор AB3130x1, 1 мл./ опаковка	22 оп.
2.9.	Високо дейонизиран формамид, HI-DI за приготвяне на пробите преди електрокинетичното им инжектиране в капилярни електрофорезни системи като AB3130x1, 25 мл/ опаковка	12 оп.
2.10.	Реакционен буфер-10x за протичане на електрофореза на секвенатор AB3130x1, 500 мл/ опаковка	1 оп.
2.11.	Полимер за капилярна електрофореза на AB3130x1 (POP7), подходящ както за секвенционен, така и за фрагментен анализ, за капиляри с дължина 36 и 50cm - 3.5 мл./ опаковка	16 оп.
2.12.	Капиляри комплект от 16 броя с дължина 36 cm. за AB3130x1, подходящи за секвениране и фрагментен анализ, размери 47cm x 50µm i.d., 1 брой/ опаковка	3 оп.

2.13.	Стандарт за размер -LIZ 500, за определяне на ДНК фрагменти с дължина 35-500bp, съдържа 16 белязани с LIZ едноверижни ДНК фрагменти, подходящ за анализ на микросателити и други, 800 реакции/ опаковка	1 оп.
-------	---	-------

### ОБОСОБЕНА ПОЗИЦИЯ № 3. Реактиви за микрочипов анализ

№	Наименование/артикули/ - описание	Количество
3.	<b>Реактиви за микрочипов анализ</b>	
3.1.	Покривни стъкла за хибридизация на микрочипове с 4 полета, 5 броя в опаковка	2 оп.
3.2.	Човешка Cot-1 ДНК, размер: 50 до 300 bp, богата на ДНК-повтори като Alu и Kpn, за блокиране на неспецифичната хибридизация на микрочиповете по т. 3.6. Количество 625мкг с концентрация 1мг./мл./ опаковка	1 оп.
3.3.	Кит за ензимно флуоресцентно белязване на ДНК за анализ чрез олигонуклеотидни микрочипове, съвместим с чиповете по т. 3.6 съдържащ съответно мъжка и женска референтна ДНК, пречистващи колонки, както и рестриктазни ензими - Alu I - 25µL и Rsa I - 25µL. Количества достатъчни за белязване на 25 проби (0.25-2.5 мкг. геномна ДНК) с Cyanine 3-dUTP и 25 проби (0.25-2.5 мкг. геномна ДНК) с Cyanine 5-dUTP.	2 бр.
3.4.	Хибридизационен кит за ДНК микрочипове, включващ хибридизационен буфер и блокиращ реагент, и съвместим с микрочиповете по т. 3.6 , Количества достатъчни за 25 микрочипа.	1 бр.
3.5.	Кит от буфери №1 и №2 за промиване на ДНК микрочипове (2x4л. Буфер 1 и 1x4л. Буфер 2), съвместими с Agilent технологията, за ръчно промиване, достатъчни за 100 микрочипа	1 бр.
3.6.	Микрочипове с 4 полета за хибридизация, съдържащи олигонуклеотиди от целия геном с висока резолюция, гъстота 4x44K, ISCA дизайн, за наличен софтуер CytoGenomics, 1 брой в опаковка	10 оп.

### ОБОСОБЕНА ПОЗИЦИЯ № 4. Реактиви за изолиране на РНК и ДНК от тъкани

№	Наименование/артикули/ - описание	Количество
4.	<b>Реактиви за изолиране на РНК и ДНК от тъкани</b>	

4.1.	Кит за изолиране и пречистване на втреклетъчна РНК от стабилизирана кръв. Китът да бъде IVD/CE-маркиран, за цяла кръв от 2.5 мл. Да използва центрофужни колонки със силициева мембрана и да съдържа ДНаза I, свободна от РНази, всички необходими реагенти и буфери, също свободни от РНази, Протеиназа К, 50 бр. центрофужни колонки, 50 бр. специални центрофужни колонки за хомогенизиране на клетъчния лизат; епруветки. Време за изолиране да не бъде повече от 90 минути /за 12 проби/с Обем на елуиране: 40 µl и РНК добив от 2,5 мл проба да бъде повече от >3 µg. Чистотата на получената РНК да бъде между 1.8-2.2 (A260/A280), а пречистената РНК да бъде подходяща за последващ RT-PCR анализ на специфични транскрипти; 50 реакции / опаковка	1 оп.
4.2.	Епруветки за събиране, транспортиране и съхранение на цяла кръв и стабилизиране на втреклетъчна РНК, IVD/CE-маркирани; да съдържат реагенти, подпомагащи лизиса на всички клетки в пробата и предпазващи РНК от действието на РНази и други ензими/РНК стабилизираща технология/ ; да осигуряват стабилност на РНК в пробата: до 3 дни на стайна температура (18 – 25°C), до 5 дни на 2–8°C, до 96 месеца на –20°C или –70°C. Размери на епруветките: 16 x 100 mm. Обемът на пробата да бъде 2.5 мл., а обемът на добавката 6.9 мл. Затварянето на епруветките да бъде тип BD Hemogard; 100 броя/ опаковка	1 оп.
4.3.	Протеиназа К, готов за употреба разтвор с концентрация 20 mg/ml и активност >318 mAU/ml (30°C). Да е стабилна при съхранение на стайна температура- до 12 месеца; 2мл/ опаковка	1 оп.
4.4.	Кит за пречистване на геномна ДНК от фиксирани с формалин и включени в парафин тъкани, за изолиране на геномна и митохондриална ДНК от малки по обем проби с бърза екстракция на ДНК- за по-малко от 30 минути. Вид и количество на изходния материал: парафинови срези, до 8 среза с дебелина до 10 µm или сумарна площ от 250 mm <sup>2</sup> . Да съдържа центрофужни колонки (минимум 50 бр.), лизиращ и промиващи буфери, Протеиназа К, събирателни епруветки (минимум 150 бр.); да използва центрофужни колонки със силициева мембрана с обем на елуиране от 20 до 100 µl. Изолираната ДНК да е подходяща за последващи анализи като SNP, STR, PCR в реално време, LMD-PCR; 50 реакции/ опаковка	2 оп.

#### ОБОСОБЕНА ПОЗИЦИЯ № 5. Реактиви за PCR и MLPA анализ

№	Наименование/артикули/ - описание	Количество
5.	Реактиви за PCR и MLPA анализ	

5.1.	Кит за генетичен анализ за наличие на големи геномни делеции и дупликации- фрагментен анализ чрез MLPA китове, съдържащ всички реактиви за подготовка на пробите и специфичен микс от сонди за ген по избор, за анализ на 100 проби и специфичен микс за анализ на пробите за 100 реакции	2 бр.
5.2.	Рекомбинантна Taq ДНК полимераза, която катализира 5'→3' синтез на ДНК. Предлага се в комплект от: Taq полимераза (250 Units, концентрация 5 U/μl), 10X реакционен буфер (съдържащ 20 mM MgCl <sub>2</sub> - 1.0 ml); 10 mM дезоксинуклеотиден микс (dNTPs: по 2.5 mM от dATP, dCTP, dGTP и dTTP. – 0,5 мл). Реакционен буфер да съдържа енхансери за осигуряване на амплификация на матрици с високо GC съдържание на или наличие на вторични структури.	20 бр.
5.3.	High Fidelity ДНК полимераза с концентрация 1 U/ul, в комплекс с 5X High Fidelity буфер, 5X GC буфер, MgCl <sub>2</sub> (25 mM) и dNTP Mix (10mM each dNTP), с възможност за амплифициране на трудни (GC- и AT-богати) и дълги до 15 kb геномни ДНК фрагменти; с 5'-3' полимеразна и 3'-5' екзонуклеазна активност и липса на 5'-3' екзонуклеазна активност; процент грешка – 1 грешка на 3,6x10 <sup>6</sup> включени нуклеотида; 250 единици/опаковка	1 оп.
5.4.	Кит за ензимно пречистване на продукти от полимеразна верижна реакция (PCR), елиминирайки невключените праймери и дезоксинуклеотиди, с цел да не възпрепятстват реакцията на секвениране. Китът съдържа екзонуклеаза I и алкална фосфатаза (Shrimp Alkaline Phosphatase, Recombinant) и да се прибавя директно към PCR продуктите. Китът функционира в конвенционалните PCR буфери, тъй че не е необходима смяна на буферната среда. Третирането с пречистващия кит се осъществява за 5 мин на 37°C, последвано от 10 мин на 80°C за пълно инактивиране на двата ензима. PCR продуктите са готови за непосредствена употреба без допълнителна обработка. Кит от 2000 проби/ опаковка	1 оп.

#### ОБОСОБЕНА ПОЗИЦИЯ № 6. Консумативи за изолиране на ДНК и PCR

№	Наименование/артикули/ - описание	Количество
6.	Консумативи за изолиране на ДНК и PCR	
6.1.	Епруветки 50 мл с капачки на винт, полипропиленови, конични, non-skirted, нестерилни, градуирани през 5мл., 500 броя/ опаковка	4 оп.

6.2.	Криоепруветки с цветни винтови капачки с външна резба. Обем до 2.2мл, градуирани с място за писане. Макс. Ø на епр./ Ø с капачка/ вис. - 12.4/ 13.1/ 47.3mm. Стерилни, облодъжни с външна звездовидна стояща основа. DNase, RNase, Pyrogen and Heavy metal free, non-cytotoxic. Подходящи за съхранение на биологичен материал при -196°C; 100 броя заедно с 50 индикатори/ опаковка	8 оп.
6.3.	Криокутии с капак, подходящи за дълбоко замразяване до -196°C за 81 проби, автоклавируеми до 121°C, полипропиленови с вътрешна неподвижна решетка с квадратни ямки за криоепруветки с Ø12-12.5мм, размери: височина 52-53мм, 133/133мм±1мм	14 бр.
6.4.	Врърчета, обем 0.5 - 10мкл, прозрачни, полипропиленови, градуирани, с остър връх, термоустойчиви при темп. до 121°C, Metal free, съвместими с пипети тип Eppendorf и тип Biohit, 1000бр./ опаковка	30 оп.
6.5.	Врърчета, обем 5 - 200мкл, полипропиленови, без оребряване в основата на типчето, термоустойчиви при темп. до 121°C, Metal free, съвместими с пипети тип Eppendorf и многоканални пипети тип Biohit, 1000бр./ опаковка	35 оп.
6.6.	Врърчета 100-1000мкл, полипропиленови, термоустойчиви при темп. до 121°C, съвместими с пипети тип Eppendorf Research и Research Pro, 1000бр./ опаковка	10 оп.
6.7.	Епруветки с прикрепена към епруветката плоска капачка- обем 0.2ml, полипропиленови, DNase, RNase, Pyrogen free, автоклавируеми до 121°C 1000бр./ опаковка	2 оп.
6.8.	Комплект - PCR Стрип от 8 бр.епруветки с обем 0.2мл и отделен стрип от 8 броя плоски капачки, полипропиленови, безцветни, DNase, RNase free, Non-Pyrogenic, 125 бр./оп. Стрип епруветки и стрип капачки, 125 броя/опаковка	5 оп.
6.9.	0.5 ml PCR епруветки, полипропиленови, DNase, RNase free с прикрепена плоска капачка, 1000 броя/опаковка	2 оп.
6.10.	Епруветки - обем 1.5мл, тип Eppendorf, полипропиленови, DNase, RNase free, градуирани с прикрепена плоска капачка, устойчиви при центрофугиране до 20000rcf, автоклавируеми, 500 броя/опаковка	2 оп.
6.11.	96 ямкови плаки- полипропиленови, half-skirt, обем -0.2мл; безцветни, нестерилни, DNase, RNase, DNA free, Non-Pyrogenic; подходящи за секвенатор AB3130x1, 10 броя/опаковка	10 оп.