

Załącznik nr 4 do Zapytania ofertowego nr 02/09/2022

Szczegółowy opis przedmiotu zamówienia*

w zakresie przygotowania peptydowej biblioteki fagmidowej, zawierającej bakteriofagi M13 posiadające na swej powierzchni 12-aminokwasowe peptydy w fuzji z białkiem g3p. Usługa w zakresie wykonania badania przesiewowego (ang. biopanningu) dwóch bibliotek fagmidowych - przygotowanej przez podwykonawcę 12-aa biblioteki fagmidowej oraz autorskiej 7-aa biblioteki fagmidowej – obu bazujących na fagu filamentowym M13 wobec białek N i/lub S koronawirusa SARS- CoV-2.

Wymagane elementy i parametry minimalne lub równoważne	Nazwa		Szczegółowa specyfikacja
	1.	Przygotowanie i oznaczenie miana peptydowej biblioteki fagmidowej, zawierającej bakteriofagi M13 posiadające na swej powierzchni 12-aminokwasowe peptydy w fuzji z białkiem g3p	Wartość miana dla biblioteki $\geq 10^8$ cfu/mililitr. Odsetek wektorów z prawidłowym insertem w bibliotece fagmidowej $\geq 70\%$.
	2.	Selekcja bakteriofagów o największym powinowactwie do białka N i S – biopanning (3-6 iteracji)	1. wprowadzenie biblioteki do systemu hiperfagowego i wychwycenia wiążących antygen fagów; 2. wymywanie niezwiązanych fagów nieselektywnych lub o niskim powinowactwie; 3. odzyskiwanie na drodze elucji fagów specyficjnie wiążących badany cel i amplifikacja odzyskanego faga
	3.	Identyfikacja/selekcja klonów bakteriofagów o największym powinowactwie do białka N i S, test ELISA	Analizie wiązania z użyciem testu ELISA poddanych zostanie ≥ 20 klonów bakteriofagów na każde z analizowanych białek N i S wirusa SARS-CoV-2, czyli łącznie co najmniej 40 klonów). Efektywność wiązania przez pomiar absorbancji; Fagi dające najwyższy sygnał w porównaniu (co najmniej ok 75- 100% większy) do tła ELISY – kontroli negatywnej np. BSA, kontrolny bakteriofag M13. W procesie weryfikacji za pomocą testu ELISA dodatkowo przeprowadzona zostanie tzw. metoda eliminacyjna lub podwójna selekcja fagów (ang. subtractive or dual procedure). W procesie tym bakteriofagi/peptydy wiążące się z innymi białkami występującymi w osoczu krwi np. albuminy, globuliny, lipoproteiny itp. są eliminowane.
	4.	Identyfikacja/selekcja białek fuzyjnych g3p-peptyd o największym powinowactwie do białka N i S wirusa SARS-CoV-2 – test ELISA	Analizie wiązania z użyciem testu ELISA poddanych zostanie ≥ 20 fuzji peptydów z gp3 na każde z analizowanych białek N i S wirusa SARS-CoV-2, czyli łącznie co najmniej 40 fuzji peptydów z białkiem gp3. Efektywność wiązania przez pomiar absorbancji. Białka fuzyjne g3p-peptyd dające najwyższy sygnał (co najmniej 75-100% większy) w porównaniu do tła ELISY - kontrole negatywnej np. BSA, białko g3p. W procesie weryfikacji za pomocą testu ELISA dodatkowo przeprowadzona zostanie tzw. metoda

			eliminacyjna lub podwójna selekcja fagów (ang. subtractive or dual procedure). W procesie tym bakteriofagi/peptydy wiążące się z innymi białkami występującymi w osoczu krwi np. albuminy, globuliny, lipoproteiny itp. są eliminowane.
--	--	--	---

Dodatkowe warunki odnoszące się do przedmiotu zamówienia			
Dodatkowe warunki	I.	Wykonawca posiada know how, a także dysponuje zasobami ludzkimi i sprzętowymi, niezbędnymi do realizacji czynności objętych postępowaniem zgodnie z mającymi zastosowanie procedurami i dobrymi praktykami, należytą starannością oraz Kodeksem etyki pracownika naukowego i najwyższymi standardami naukowymi;	
	II.	Wykonawca jest ekspertem w zakresie czynności objętych postępowaniem, z należytą starannością dokonał analizy ryzyka wystąpienia Ryzyka naukowego i na dzień złożenia oferty nie zidentyfikował okoliczności mogących doprowadzić do niezrealizowania lub nienależytego zrealizowania Umowy z powodu wystąpienia Ryzyka naukowego;	
	III.	Sprzęt oraz urządzenia, z których będzie korzystał Wykonawca przy realizacji usługi będą odpowiadać znajdującym zastosowanie normom, wskazanym przez Spółkę albo powszechnie przyjętym;	
	IV.	Wobec Wykonawcy nie jest prowadzone postępowanie upadłościowe, likwidacyjne lub układowe oraz wedle jego najlepszej wiedzy nie istnieją żadne okoliczności mogące spowodować wszczęcie takich postępowań;	
	V.	Nie istnieją żadne umowy lub porozumienia zawarte z osobami trzecimi ograniczające lub uniemożliwiające mu zawarcie Umowy oraz wykonanie jej postanowień;	
	VI.	Wykonawca posiada niezbędne zasoby finansowe oraz wszelkie zezwolenia konieczne do właściwego wykonywania Usług tj. zgodę ministra właściwego do spraw środowiska na prace z mikroorganizmami genetycznie zmodyfikowanymi (GMM), zgodnie z Opisem usługi.	
	VII.	Usługa musi być realizowana przez co najmniej 2 (dwie) osoby, które będą spełniać co najmniej następujące warunki:	
		a. wykształcenie wyższe z zakresu biologii, biotechnologii lub chemii, posiadające co najmniej roczne doświadczenie w pracy laboratoryjnej;	
		b. posiadanie ekspertyzy i doświadczenia w przesiewaniu peptydowych bibliotek fagowych techniką „phage display”;	
		c. posiadanie minimum 3-5-letnie doświadczenie w pracy z techniką ekspozycji fagowej „phage display” do identyfikacji krótkich specyficznych peptydów wiążących docelowe białka	
		d. posiadanie wiedzy i umiejętności pozwalające na przeprowadzenie następujących zadań z zakresu przygotowania i przesiewania peptydowej biblioteki fagowej:	
		(i) wygenerowanie biblioteki peptydowej bazującej na hiperfagu białka g3p	
		(ii) wprowadzenie biblioteki do systemu hiperfagowego i wychwycenia wiążących antygen	

	(iii) wymywanie niezwiązanych fagów nieselektywnych lub o niskim powinowactwie; (iv) odzyskiwanie na drodze elucji fagów specyficznym wiążącym badany cel i amplifikacja odzyskanego faga; (v) wykorzystanie testu ELISA do wyboru bakteriofagów o największym powinowactwie do białek N i S; (vi) porównanie wyników z kontrolą negatywną w obecności kontrolnego bakteriofaga M13 oraz pozytywną dla przeciwciał antybiałko N/S; (vii) wykorzystanie testu ELISA do wyboru peptydów w fuzji z białkiem g3p o największym powinowactwie do białek N i S; (viii) porównanie wyników z kontrolą negatywną w obecności białka g3p oraz pozytywną dla przeciwciał anty-białko N/S; (ix) w procesie weryfikacji za pomocą testu ELISA dodatkowo przeprowadzona zostanie tzw. metoda eliminacyjna lub podwójna selekcja fagów (ang. subtractive or dual procedure). e. Wykonawca powinien dysponować zapleczem technicznym: • Komora laminarna (1 szt.) - Filtracja powietrza przy pomocy filtrów HEPA, przepływ powietrza z minimalną średnią prędkością przekraczającą 0,4 m/s, oświetlenie wewnątrz komory > 1000lux; • Autoklaw (1 szt.) - temperatura sterylizacji 105°C do 134°C, max. ciśnienie 230 kPa; • Ciepłarka (1 szt.) - Minimum 15dm³, zakres regulacji temperatury 17°C to 40°C (stabilność ±0.2%); • Inkubator z funkcją wytrząsania (1 szt.) - Zakres regulacji temperatury 25°C do 42°C (stabilność ±0.5%). Zakres obrotów [obr./min] 50-250. Czasomierz od 1min do 96h;/ • Spektrofotometr – typu Nanodrop (1 szt.) – Badanie z próbki 0.5-2ul, zakres mierzonego spektrum, co najmniej 200-800nm, szybkość odczytu ok 5sec, skonfigurowane metody pomiaru A260, A280, pomiaru białek, DNA, czy wybarwionych molekuł; • Wirówka laboratoryjna stołowa z opcją chłodzenia (1 szt.) -RCF [x g] ≥ 20 000, temperatura -5°C do 25°C, możliwość stosowania rotorów na różne próbki laboratoryjne; • Vortex, mieszadła (1 szt.) - Vortex z regulowaną prędkością w zakresie 250-3000 obr/min. Mieszadła magnetyczne ≥1500rpm; • Czytnik płytek do przeprowadzania testu ELISA (1 szt.) – Wielofunkcyjny czytnik mikropłytek 96 z ksenonową lampą błyskową o wysokiej energii, modułem odczytu absorbancji (zakres odczytu 200-900 nm), modułem luminescencji (min zakres odczytu 400-700nm), modułami do odczytu fluorescencji na filtrach • Zestaw pipet automatycznych (1 szt.) – Pipety o objętości: 2,5 ul, 10 ul, 20 ul, 100 ul, 200 ul oraz 1 i 5 ml oraz pipety wielokanałowe • Chłodziarko-zamrażarka (1 szt.) zamrażarka -25 do -20C co najmniej 60 l pojemności, lodówka 4-8C co najmniej 200l pojemności • podstawowe wyposażenie laboratoryjne niezbędne do realizacji Zadań.
--	---

* Mogące wystąpić w opisie przedmiotu zamówienia nazwy własne (znaki towarowe) mają charakter przykładowy, a ich wskazanie ma na celu określenie oczekiwanego standardu przy czym Zamawiający dopuszcza składanie „ofert równoważnych”. Przez ofertę równoważną należy rozumieć taką, która przedstawia opis przedmiotu zamówienia o takich samych lub lepszych parametrach technicznych, jakościowych i funkcjonalnych spełniających minimalne parametry określone przez Zamawiającego, lecz oznaczone innym znakiem towarowym,

patentem lub pochodzeniem. Oferent, który powołuje się na rozwiązania równoważne opisywane przez Zamawiającego, jest obowiązany wykazać, że oferowane przez niego dostawy spełniają wymagania określone przez Zamawiającego.