



Vysvětlení zadávací dokumentace č. 1

k veřejné zakázce na dodávky zadávané v otevřeném řízení v nadlimitním režimu dle zákona č. 134/2016 Sb., o zadávání veřejných zakázek, ve znění pozdějších předpisů (dále jen „ZZVZ“),
s názvem

„LFP - Celogenomový sekvenátor pro sekvenaci DNA pomocí dlouhých čtení - opakování“

Zadavatel:

Název: Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Plzni
Sídlo: alej Svobody 1655/76, 323 00 Plzeň
IČO: 00216208
DIČ: CZ00216208
Zastoupená: prof. MUDr. Jindřichem Fínkem, Ph.D., MHA, děkanem fakulty
Kontaktní osoba: Mgr. Ondřej Škrabal
tel.: +420 377 593 486
e-mail: ondrej.skrabal@lfp.cuni.cz

Zadavatel obdržel dne 23. 12. 2024, 6. 1. 2025 a 9. 1. 2025 žádost o vysvětlení zadávací dokumentace k výše uvedené veřejné zakázce. Níže zadavatel poskytuje vysvětlení:

Dotaz č. 1:

1. Přesnost sekvenace vyšší než 99,99 %

Z našeho chápání ZD se domníváme, že uvedená přesnost sekvenace (99,99 %) není v možnostech aktuálních technologií, pokud jde o přesnost samotné sekvenace, nikoli konsenzuální přesnost po sekundární analýze. Nejrozšířenější systémy (Illumina), ale i další (PacBio, Element, MGI) dosahují standardní přesnosti čtení 99,9 %, což je zároveň uvedeno i v jiném bodě specifikace „přílohy 1 kupní smlouvy“, a to v bodě sekvenace fragmentů o délce > 10 kbp. Bohužel nám není zcela jasné, jestli požadujete přesnost 99,9 % nebo 99,99 % a pokud 99,99%, tak za jakých podmínek? Neradi bychom se dopustili omylu!

Bylo by možné také upřesnit, jaké procento bazí musí dosahovat uvedené přesnosti 99,9 %? Uvedená přesnost odpovídá metrice Q30 (Q = Quality Score), kde Q30 představuje běžně uznávaný standard sekvenace s pravděpodobností chybného zařazení báze 1 z 1 000 (přesnost 99,9 %). Nicméně i u systémů dosahujících Q30 platí, že tohoto standardu obvykle nedosahuje 100% bazí, například již výše



zmíněná Illumina většinou uvádí kolem 80–90 % bazí s přesností Q30 a ostatní systémy jsou na tom podobně.

Naše řešení sekvenace DNA fragmentů o délce > 10 kbp a s přesností nad 99,9 %, přičemž umožňuje získat >90 % bazí s touto přesností (Q30 a více) do 24 hodin při outputu v rozmezí 50–60 GB (dle délky fragmentů). Při zachování vysoké kvality přináší toto množství dat nižší výpočetní zátěž v následném datovém zpracování (především v rámci sekundární analýzy).

Navrhujeme tedy zvážit úpravu tohoto bodu na:

„Systém pro sekvenaci dlouhých úseků DNA s vysokou přesností čtení bez nutnosti dalšího zpřesnění (přesnost čtení vyšší než 99,9 %). Zároveň musí X% bazí dosáhnout kvality Q30 a více.“

Odpověď č. 1:

Z důvodu využití přístroje pro vědecké analýzy a referenční činnost v oblasti epidemiologie bakterií rezistentních na antibiotika je nezbytné dosahovat přesných a reprodukovatelných výsledků, tj. omezit chybovost sekvenace. Požadovaná přesnost tak musí být zajištěna u výstupních dat, s nimiž je pracováno pro další analýzy za účelem epidemiologického srovnávání bakterií. Zadavatel proto neomezuje požadavek přesnosti v jednotlivých krocích sekvenace, ale pouze na výstupní data získaná ze sekvenační platformy, která je předmětem dodávky. Zadavatel tedy akceptuje dosažení deklarované přesnosti i po sekundární analýze, tj. konsenzuální přesnosti, ale na základě softwarového řešení, které je součástí dodávky a za podmínek a protokolů doporučovaných a validovaných výrobcem. Zadavatel bude akceptovat řešení s přesností čtení vyšší než 99,9 % bez nutnosti dalšího zpřesnění.

Dotaz č. 2:

2. Požadavek na 200 Gbp hrubých dat během jedné sekvenace

Pro sekvenaci 96 mikrobiálních genomů o velikosti do 1 Gbp s pokrytím alespoň 15× a přesností 99,9 % by postačovalo přibližně 15–20 Gbp hrubých dat. Tento objem dat lze reálně vygenerovat během 24 hodin, což odpovídá Vašemu požadavku na dobu trvání běhu.

Požadavek na 200 Gbp hrubých dat však významně zvyšuje finanční náklady a nároky na následné zpracování, přičemž velikost outputu nemusí mít přínos a může mít v tomto ohledu naopak negativní dopad.

Například u námi poskytovaného řešení pro sekvenování genomů pomocí dlouhých čtení je možné sekvenovat v rámci jednoho sekvenačního experimentu až 384 bakteriálních genomů do celkové délky reference 4Gbp při pokrytí 15x (celkový výstup 50-60Gbp) a zachování vysoké kvality sekvenačních dat (více jak 90% bazí bude mít kvalitu Q30 a více). V případě technologie poskytující data s nižší kvalitou by skutečně mohlo být potřeba podstatně více dat pro dosažení stejně kvalitních výsledků. Takový přístup, ale dělá zpracování dat náročnější a množství vygenerovaných dat je v tomto ohledu spíše negativum.



Odpověď č. 2:

Zadavatel uvádí minimální požadavky na kvalitu, tj. zachování vysoké kvality sekvenačních dat z důvodu využití sekvenátoru pro referenční činnost a využití pro získání vysoce kvalitních a reprodukovatelných vědeckých dat. Je tedy zřejmé, že pokud nabízená technologie umožňuje sekvenaci až 384 bakteriálních genomů do celkové délky reference 4Gbp (tj. velikost jednoho bakteriálního genomu do cca. 10 Mbp) a zachování požadované vysoké kvality získaných sekvencí, splňuje tento parametr požadavky zadávací dokumentace.

Dotaz č. 3:

3. Chybovost nesmí přesáhnout 5 SNPs u mikrobiálních genomů o velikosti 4 Gbp

Bylo by možné doplnit informace k této specifikaci? Má se chybovost vztahovat k primární analýze sekvenčních dat nebo k sekundární analýze (například „de novo assembly“ či mapping vůči referenci)? Bylo by možné specifikovat i další parametry, jako je minimální pokrytí, které může být klíčové pro dosažení této přesnosti?

Odpověď č. 3

Z důvodu administrativní chyby byla velikost mikrobiálních genomů uvedena v Gbp namísto Mbp. Hodnota 4 Mbp vyplývá z běžně sekvenované průměrné velikosti bakteriálního genomu a je zřejmá z dalších požadavků zadávací dokumentace (je počítáno s maximální hodnotou do 10 Mbp pro bakteriální genom – viz např. odpověď na dotaz č. 7).

Chybovost získaného bakteriálního genomu o průměrné velikosti 4Mbp je vztažena k výstupním datům ze sekvenační platformy. Zadavatel v zadávací dokumentaci neomezuje dodavatele, v jaké části sekvenačního kroku má být přesnosti dosaženo, tj. zda na základě získaných hrubých dat nebo až po sekundární analýze dat. Případná sekundární analýza dat musí však být prováděna na softwarovém řešení poskytovaném jako nedílná součást sekvenační platformy. Pro deklarovanou přesnost požaduje zadavatel, aby jí bylo dosaženo na základě protokolů a postupů poskytovaných a validovaných výrobcem.

Zadavatel tedy uvádí, že „Chybovost nesmí přesáhnout 5 SNPs u mikrobiálních genomů o velikosti 4 Mbp“

Dotaz č. 4:

V dokumentu Příloha č. 1 kupní smlouvy – specifikace předmětu plnění se udává:

„Systém pro sekvenaci dlouhých úseků DNA s vysokou přesností bez nutnosti dalšího zpřesnění (přesnost vyšší než 99,99 %).“

Dodavatel nerozumí, co je myšleno „nutností dalšího zpřesnění“?



Odpověď č. 4:

Dalším zpřesněním je myšlena dodatečná experimentální práce, například zpřesnění pomocí jiných sekvenačních systémů (například pomocí krátkých čtení). Přesnosti musí být dosaženo sekvenací na dané platformě, a to za použití standardizovaných a validovaných protokolů doporučených výrobcem. Zadavatel nebude akceptovat řešení, která pro dosažení deklarované přesnosti vyžadují kombinaci s daty získanými z jiných sekvenačních platform pomocí metody hybrid assembly, tj. kombinace těchto dat.

Dotaz č. 5:

V dokumentu Příloha č. 1 kupní smlouvy – specifikace předmětu plnění se udává:

„Systém pro sekvenaci dlouhých úseků DNA s vysokou přesností bez nutnosti dalšího zpřesnění (přesnost vyšší než 99,99 %).“

a zároveň

„Systém musí splňovat ... Sekvenace DNA fragmentů o délce > 10 kbp (umožňující analýzu genomu bohatého na mobilní genetické elementy) s přesností alespoň 99,9 %. Přesnost může být dosažena softwarovým zpracováním hrubých sekvenačních dat.“

Chápe dodavatel správně, že požadavek na přesnost sekvenace 99,99% předpokládá skládání genomů a tedy přesnost sekvenace 99,99% je požadavkem na přesnost výsledného de novo assembly genomů ze získaných dat?

Odpověď č. 5:

Zadavatel v zadávací dokumentaci nespecifikuje, ve kterém kroku sekvenace má být dosaženo požadované kvality dat (viz rovněž dotaz č. 1). Požadovanou přesnost musí splňovat výstupní data. Zadavatel neřeší, zda požadovanou přesnost splňují již hrubá data (přímý výstup sekvenace), nebo až data po sekundární bioinformatické analýze. Nástroje pro tuto analýzu však musí být integrální součástí sekvenační platformy, tj. součástí dodávky.

Dotaz č. 6:

V dokumentu Příloha č.1 Kupní smlouvy – specifikace předmětu plnění se udává:

„Systém musí splňovat ... Sekvenace DNA fragmentů o délce > 10 kbp (umožňující analýzu genomu bohatého na mobilní genetické elementy) s přesností alespoň 99,9 %. Přesnost může být dosažena softwarovým zpracováním hrubých sekvenačních dat.“

Všechny sekvenační technologie generují data jejichž kvalita má určitou distribuci, a ne všechny čtené molekuly dosáhnou požadované přesnosti čtení. Chápe dodavatel správně, že alespoň část sekvenovaných sekvencí musí dosahovat přesnosti čtení 99,9%?



Odpověď č. 6:

V souladu s dotazem č. 1 a dotazem č. 3 požaduje zadavatel, aby alespoň část získaných sekvencí měla přesnost čtení alespoň 99,9 %. Tím však nejsou dotčeny další požadavky na přesnost sekvencí bakteriálních genomů uvedených ve specifikaci zboží.

Dotaz č. 7:

V dokumentu Příloha č. 1 kupní smlouvy – specifikace předmětu plnění se udává:

„Sekvenace alespoň 96 mikrobiálních genomů de novo s velikostí do 1 Gbp během jednoho běhu s prosekvenovaností alespoň 15X.“

Dodavateli není jasné, zda tímto požadavkem zadavatel myslí 96 mikrobiálních genomů, přičemž každý jednotlivý genom může dosahovat velikosti do 1 Gbp, přičemž prosekvenované alespoň 15X by to vycházelo 15Gb na 1 vzorek (tedy 1,44Tb celkem), nebo zadavatel myslí 96 mikrobiálních genomů, kdy součet velikostí jednotlivých genomů dosahuje velikosti do 1 Gbp, prosekvenovaných alespoň 15X dává dohromady přibližně 15Gb, anebo má zadavatel na mysli 96 vzorků, které osekvenované dohromady na pokrytí 15X vygenerují dohromady 1Gb dat. Ani jedna interpretace totiž neodpovídá dalšímu požadavku, kdy zadavatel požaduje datový výstup 200Gb na jeden sekvenační experiment trvající do 30h.

Jak si dodavatelé mají tyto parametry vyložit?

Odpověď č. 7:

Jedná se o minimální požadované hodnoty pro dosažení požadované přesnosti. Specifikace byla nastavena tak, jak vyplývá ze základních biologických/genetických charakteristik bakteriálních genomů, a tak musí být i jednotlivé parametry v kontextu interpretovány. Je zřejmé, že bakteriální genom nemůže dosáhnout velikosti 1 Gbp, jeho velikost je řádově menší. Pro běžně sekvenované bakterie se jedná o velikost 4 – 8 Mbp. Z uvedené specifikace tedy jasně vyplývá, že zadavatel počítá s výsledným rozsahem 96 bakteriálních genomů o celkové velikosti 1 Gbp, tj. s průměrnou velikostí bakteriálního genomu 10,4 Mbp. Tento bakteriální genom (tj. počítáno s přibližnou maximální velikostí 10,4 Mbp) by měl být prosekvenován alespoň 15X. Zadavatel neřeší datový rozsah výsledného souboru, jak je v dotazu pravděpodobně nesprávně uvedeno (např. 1Gb, 200Gb).

Dotaz č. 8:

V dokumentu Příloha č. 1 kupní smlouvy – specifikace předmětu plnění se udává:

„Délka sekvenace během jednoho běhu do 30 hodin včetně“.

Námi nabízené řešení umožňuje uživateli specifikovat délku běhu sekvenačního experimentu a tím si flexibilně přizpůsobit požadovaný datový výstup. Bude zadavatel akceptovat řešení, které umožňuje nastavení kratší i delší doby sekvenačního experimentu než je 30h?

Odpověď č. 8:

Zadavatel neomezuje minimální délku sekvenačního experimentu (v zadávací dokumentaci uvedeno „do 30 hodin včetně“). Za předpokladu, že jsou splněny požadované kvalitativní parametry získaných sekvenačních dat, lze sekvenační experiment ukončit dříve. Zadavatel neomezuje, zda délka



sekvenačního běhu je nastavena před jeho začátkem, nebo je sekvenační běh zastaven v průběhu sekvenace, jsou-li získána kvalitní data s požadovanými parametry.

Dotaz č. 9:

V dokumentu Příloha č. 1 kupní smlouvy – specifikace předmětu plnění se udává:

„V případě sekvenace mikrobiálních genomů o velikosti 4Gbp chybovost nesmí přesáhnout 5 SNPs.“

„Možnost získání dat o epigenetických změnách (alepoň methylace DNA) v rámci sekvenace DNA bez nutnosti další laboratorní přípravy vzorku.“

Takto definované požadavky odpovídají hodnotě téměř Q90, tedy jedné chybě na ~1 miliardu osekvenovaných bazí. V současné době není takovéto přesnosti dosahováno ani pro sekvenace např. lidských genomů. Navíc v kombinaci s požadavkem na souběžnou detekci methylací při sekvenaci DNA je tento požadavek ještě více vzdálen současným technologickým možnostem.

Navíc, požadavek na přesnost sekvenace, potažmo výsledné assembly genomů je již specifikován v dalších ve výše zmíněných požadavcích.

Chápeme správně, že tento požadavek je ovlivněn tiskařskou chybou a tedy na základě ostatních požadavků se počítá s přesností 99,99% pro *de novo* assembly mikrobiálních genomů?

Odpověď č. 9:

Jedná se o požadavek, který vychází z plánovaného účelu využití sekvenační platformy. Požadavek je tak vztažen na minimální přesnost 99,99% pro *de novo* assembly mikrobiálních genomů. Této přesnosti musí být dosaženo za použití standardizovaných protokolů validovaných a doporučených výrobcem. Ohledně požadavku na maximální chybovost viz dotaz č. 3.

Dotaz č. 10:

V dokumentu Příloha č. 4 zadávací dokumentace – obecné podmínky pro dodávku přístrojů se udává:

„Vzhledem ke standardu ICT, který používá zadavatel, je potřeba dodržet dále uvedené min. parametry pro dodávané PC a SW vybavení:

o Je požadována aktuálně podporovaná verze operačního systému (aktuálně MS Windows 10) a kompatibilita HW dodávané techniky pro možnost budoucího provedení upgrade na systém min. MS Windows 11 deklarovaná výrobcem nebo doložená jiným způsobem anebo poslední oficiálně podporovaná verze operačního systému jiného výrobce či Opensource v poslední vydané stabilní verzi – podle konkrétního zadání u každého takového zařízení.

o Operační systém musí být dodán v časově neomezené licenci pro komerční využití a provozu v podnikovém prostředí v souladu s informacemi výrobce operačního systému. Je vyloučené dodávat operační systémy určené pro domácí nebo nekomerční či jinak limitované využití, testovací verze nebo verze s nedokončeným vývojem apod.

o Bude umožněno provádět aktualizace operačního systému a instalovat bezpečnostní záplaty, které opravují zranitelnosti a chyby v operačním systému automaticky k termínu jejich vydání a v souladu s doporučením výrobce SW.



o Bude možné instalovat a provozovat antivirový program zadavatele (aktuálně Avast Business), udržovat ho v poslední verzi, s aktuální verzí jádra a virových definic. Dále bude možné mít zapnutý firewall systému Windows nebo ekvivalentní pro jiné OS, aniž by mělo negativní dopady na záruku, podporu nebo provoz PC a přístroje. „

Námi dodávané řešení nezahrnuje klasické kontrolní PC (Personal Computer), ale v sekvenátoru integrovaný výpočetní server s ovládacím software využívající operačního systému Linux. Bude Zadavatel akceptovat takovéto řešení?

Odpověď č. 10:

Ano, toto řešení je zadavatelem akceptováno. Operační systém Linux rovněž splňuje požadavky zadavatele. Předmětné požadavky v Příloze č. 4 ZD se vztahují na osobní počítače dodávané k přístroji nikoliv na integrované výpočetní stanice.

Dotaz č. 11:

V dokumentu Příloha č. 4 zadávací dokumentace – obecné podmínky pro dodávku přístrojů se udává: „V případě dodávky podpůrných a obslužných SW k přístroji dodaných dodavatelem, je požadována jeho (jejich) dodávka v poslední verzi stanovené výrobcem k datu dodání a dále s možností udržovat tento (tyto) SW v bezpečném stavu pomocí doporučených aktualizací vydávaných jeho výrobcem min. po celou dobu záruky. Dále dodavatel garantuje budoucí možnost prodloužení podpory dodávaného SW min. o 5 let. „

a zároveň

v dokumentu Příloha č. 5 zadávací dokumentace - kupní smlouva v odstavci 6.11 se udává:

„...V případě, že poskytovatel licence obslužného software neumožňuje poskytnutí časově neomezené licence, musí být součástí dodávky zboží licence na dobu minimálně 10 let od předání a převzetí zboží....“

a zároveň

v dokumentu kupní smlouva se udává:

Zakázka je realizována z prostředků projektu:

Název projektu: Modernizace přístrojového a výpočetního vybavení Národního centra lékařské genomiky

Číslo projektu: CZ.02.01.01/00/23_015/0008183

S ohledem na tyto informace poukazujeme na nutnost zvážit, zda pro zakoupený předmět plnění má být zaručena aplikační a kompatibilní produktová podpora a dodávky kompatibilního spotřebního materiálu ze strany dodavatele na celé požadované období 10 let uvedených v požadavcích na licenci – což je pravděpodobně požadovaná doba udržitelnosti projektu, z jehož rozpočtu bude koupě financována. Vznášíme proto dotaz, zda chápeme správně, že zadavatel požaduje také garanci dodávek spotřebního materiálu a produktovou a aplikační podporu jak po celou dobu záruky předmětu plnění, tak i po celou dobu platnosti licence obslužného software? Tedy dodavatel se zavazuje dodávat





kompatibilní spotřební materiál a reagenty pro předmět plnění po celých 10let od uzavření kupní smlouvy na přístroj?

Odpověď č. 11:

Předmětem plnění není závazek ze strany dodavatele dodávat kompatibilní spotřební materiál a reagenty po dobu platnosti obslužného software. Výše uvedené období 10 let se týká pouze licencí obslužného software.

Součástí tohoto vysvětlení zadávací dokumentace je opravená Příloha č. 1 Kupní smlouvy – specifikace zboží v souladu s odpovědí č. 3.

S ohledem na povahu tohoto vysvětlení zadavatel **prodlužuje** lhůtu pro podání nabídek do 10. 2. 2025 9:00 hod.

Přílohy:

- Příloha č. 1 kupní smlouvy - specifikace zboží_2025-01-10

Zástupce zadavatele
Mgr. Ondřej Škrabal



Spolufinancováno
Evropskou unií

