

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine

TÜSEB PROJELERİ SATIN ALMA TALEP FORMU

03/05/2024

Yürütücüsü bulunduğum 33216 kodlu ve “Dijital Polimeraz Zincir Reaksiyonu Temelli İnvaziv Olmayan Fetal Tarama Testi Geliştirilmesi ve Klinik Validasyonu” başlıklı **TÜSEB projesi** kapsamında aşağıdaki 1 kalem (200 adet) satınalma/harcama işlemlerinin gerçekleştirilmesi hususunda gereğini arz ederim.

Mehmet Ali Ergün

Proje Yürütücüsü

Tıp Fakültesi

SIRA NO	MALZEME / HİZMET	MİKTAR	BİRİM	TEKNİK ÖZELLİKLER
1	Hücre dışı DNA izolasyon kiti, koruma solüsyonu seti, hücre dışı DNA kantite ve kalite ölçüm kiti, dijital temelli PCR cihazına yönelik primer prob ve sarf malzemeleri	200	adet	Ekte sunulmuştur

Hücre dışı DNA izolasyon kiti, koruma solüsyonu seti, hücre dışı DNA kantite ve kalite ölçüm kiti, dijital temelli PCR cihazına yönelik primer prob ve sarf malzemeleri

Teknik Şartnamesi

Gerçek insan örneklerinin kıyaslanması ve doğrulanması için kullanılacak referans kontrol DNA'sı trizomi 13,18,21 anomalilerini bulduran sentetik DNA parçalarını içerecek şekilde dizayn edilmiş referans materyal olmalıdır. Uygun olmadığı deney sırasında tespit edilirse ürün firma tarafından uygun olanı ile ücretsiz değiştirilmelidir.

- 1) Teklif edilecek 10 adet referans kontrol materyali Trisomy 13, 18 & 21 genetik bozuklarını tek tüp içerisinde buldurmalıdır.
- 2) Referans materyali taşıyacak tüp içerisinde 5 ml plazma örneği ve 125 ng referans kontrol materyali bulunmalıdır.
- 3) Referans materyali %5 fetal fraction oranı içermelidir.
- 4) Referans materyali PCR, real-time PCR, ddPCR ve NGS platformları ile çalışmaya uygun olmalıdır.
- 5) Teslim edilecek her referans kontrol materyaliyle beraber 20 adet ddPCR ile uyumluluğu test edilmiş sentetik primer ve probe setleri verilecektir.
- 6) Sentetik primer setleri 25 baz ile 120 baz, probe setleri ise 30 baz ile 125 baz aralığında olacaktır.
- 7) Sentetik primer ve probe setlerinin nükleik asit içeriğinin en az %10 en fazla %25'lik oranı LNA'lerden oluşacaktır.
- 8) Sentetik primer ve probe setlerinin pürifikasyonları HPLC ile gerçekleştirilmiş olacaktır.
- 9) Sentetik probe setleri boyları; FAM, YY, Atto 550, Cy5.5 , ROX ve Cy5 floroforlarından biri olarak üretilecek bu boyalara uygun quencer kullanılacaktır.

Aşağıdaki özelliklere sahip cihazda kullanılacak uyumlu en az 4 'lü chiplerden 12 adet, en az 16'lık chiplerden 12 adet ve en az 200 örneğe yeterli gelecek kadar 5x mastermix sağlanmalıdır.

- a. Sistem, ekstrakte edilmiş nükleik asit moleküllerinin kristal damlacıklar içerisinde bölümlendirilerek hedeflenen bölgeleri amplifiye edebilmeli ve gerçek zamanlı olarak tespit ve kantifikasyonunu sağlamalıdır.
- b. Sistemle moleküler biyoloji laboratuvarlarında kullanılan aşağıdaki uygulamalar yapılabilirdir;
 - Mutlak miktar tayini (DNA/RNA)
 - Kopya sayısı varyasyonu (Copy number variation)
 - Nadir dizi tespiti (Rare event detection)
 - Gen ifadesi (Gene expression).
- c. Sistem, wild-type DNA, fetal DNA, tümör DNA'sı (cfDNA, ctcdNA gibi) , miRNA, viral RNA gibi farklı başlangıç materyalleri ile çalışabilmelidir.
- d. Açık sistem olmalı, farklı problarla çalışmaya olanak tanımalıdır.
- e. Sistem, FAM,YY, Atto 550, Cy5.5 , ROX ve Cy5 floroforlarını okuyabilen 6 adet kanala sahip olmalıdır.
- f. Sistem hazır çipler kullanmalıdır.

Prof. Dr. Mehmet Ali ERGÜN
T.C. Gaziantep Üniversitesi
Tıbbi Genetik Uzmanı
Dışarı: 1436 - Dip. İst. No: 76312

- g. Multiplex çalışmalarda çipteki tek bir kuyucukta en az altı farklı hedef tespit edilebilmelidir.
- h. Farklı örnek hacimleri için, en az 4 ve en az 16 örnek çalışabilecek farklı çip opsiyonları bulunmalıdır.
PCR için damlacıkların oluşturulması ve amplifikasyon aynı ünite üzerinde yapılmalı, özel bir ek ekipman ya da termal cycler gerektirmemelidir. Bununla beraber okuyucu ünitesi ayrı olmalı, bu sayede farklı deneyler sırasında zaman kazandırmalıdır. Bu cihazların özellikleri şu şekilde olmalıdır.
- i. Bölümlendirme ve Amplifikasyon Ünitesi
- i. Bölümlendirme ve amplifikasyon işlemi için hazır çipler kullanılmalı, PCR mix'i ve örnek karışımı çiplerdeki kuyucuklara pipetlenerek üniteye yüklenmeli başka işlem gerektirmemelidir.
- ii. Sistem damlacıkların oluşturulması sırasında manuel pH ölçümü gerektirmemelidir.
- iii. Sistem ile kantifikasyonun dinamik aralığı 0.2 kopya/ uL ile 20,000 kopya/ uL arasında olmalıdır.
- iv. Bloğun sıcaklık düzenliliği 72°C'de +/- 1.0°C olmalıdır.
- A. Okuyucu Ünitesi
- i. Bölümlendirme ve amplifikasyon işlemi tamamlandıktan sonra çipin, kullanıcı dostu bir yazılımla okunarak analiz edilmesini sağlamalıdır.
- iv. Okuma için altı kanal kullanılmalıdır.
- j. Sistemin kendi analiz yazılımı olmalıdır. Firma bu yazılımı ücretsiz olarak sunmalıdır.
- k. Sistem ile analiz süresi ortalama 150 dakika olmalı, el ile işlem süresi 15 dakikayı geçmemelidir.
- l. Cihaz ile ilgili aplikasyon uzmanı tarafından eğitim verilmelidir.

Kitler ile birlikte analiz çalışmasına geçmeden izole edilen örneklerin kalite kontrolü; yüksek hassasiyette DNA kalitesi ölçümü yapabilen sistemler ile , kitleri sağlayan firma tarafından yapılmalıdır ve belgelenmelidir. (bu işlem için Bioanalyzer veya TapeStation sistemleri kullanılmalıdır.) En az 400 örneğin kalite kontrol çalışması yapıp en uygun 200 örneğin kalite kontrol raporu sunulmalıdır.

Çalışmada Bioanalyzer cihazı kullanılacaksa 25 ila 1000 bp arasındaki dsDNA fragmentlerinin büyüklük ve kantitasyonunu yapabilen DNA 1000 kiti veya 50 ila 7000 bp arasındaki pikogram düzeyindeki dsDNA fragmentlerinin büyüklük ve kantitasyonunu yapabilen Yüksek Hassasiyetteki DNA kiti kullanılmalıdır. TapeStation cihazı kullanılacaksa 10 – 1000 pg/µL konsantrasyondaki örneklerin 35-1000bp aralığındaki ölçümünü %5 sapma ile tespit edebilecek hassasiyette kit kullanılmalıdır.