

血液・腫瘍組織等解析業務委託仕様書

地方独立行政法人神奈川県立病院機構
神奈川県立がんセンター

1. 委託業務名

血液・腫瘍組織等解析業務

2. 実施業務の概要

NovaSeq システムを用いたシーケンス解析を行い、塩基配列を取得・分類し、データを提供
する。

3. 納期

契約締結の日から令和 7 年 3 月 31 日まで

4. 作業対象

各業務で定める 1 検体ごとの単価契約とする。

5. 解析の目的

遺伝子発現解析、遺伝子変異解析、或いは糞便中の微生物種の同定のため、検体、或いは検
体より抽出された核酸の塩基配列情報を次世代シーケンサーにより取得し、一部、解析を実
施する。

6. 解析の必要条件

受託者は試料を自施設において、又は再委託により解析業者へ提供することにより、所定の
機器、試薬を用いてシーケンシングを行い、得られた情報が研究目的に対応する品質で返却さ
れること。

7. 業務内容

(1) SMART-Seq 解析 (mRNA 対象)

〈供与物〉 total RNA 50ng 以上(5ng/ul 以上)

〈作業対象〉 1 検体ごとの単価契約

〈作業内容〉

- ① 供与サンプルの品質を電気泳動および濃度測定により確認すること。
- ② SMART-Seq[®] mRNA LP を用いて DNA を合成すること。
- ③ DNA ライブラリーを必要に応じて混合すること。
- ④ シーケンサーNovaSeq6000 または NovaSeq X Plus または NovaSeq X Plus (イルミナ社)
を用いて 150base 両末端解析を行い、1 検体あたり 4,000 万リード相当シーケンスデータ
の取得を行うこと。

- ⑤ タグ配列に基づきシーケンスデータを分類すること。

(2) RNA-Seq 解析 (mRNA 対象)

〈供与物〉 total RNA 4ug 以上(200ng/ul 以上)

〈作業対象〉 1 検体ごとの単価契約

〈作業内容〉

- ① 供与サンプルの品質を電気泳動および濃度測定により確認すること。
- ② TruSeq Stranded mRNA を用いて、DNA ライブラリーを作製すること。
- ③ DNA ライブラリーを必要に応じて混合すること。
- ④ シーケンサーNovaSeq6000 または NovaSeq X Plus (イルミナ社) を用いて 150base 両末端解析を行い、1 検体あたり 4,000 万リード相当シーケンスデータの取得を行うこと。
- ⑤ タグ配列に基づきシーケンスデータを分類すること。

(3) SMART-Seq 解析 (total RNA 対象)

〈供与物〉 total RNA 50ng 以上(10ng/ul 以上)

〈作業対象〉 1 検体ごとの単価契約

〈作業内容〉

- ① 供与サンプルの品質を電気泳動および濃度測定により確認すること。
- ② SMART-Seq Stranded Kit を用いて、DNA ライブラリーを作製すること。
- ③ DNA ライブラリーを必要に応じて混合すること。
- ④ シーケンサーNovaSeq6000 または NovaSeq X Plus (イルミナ社) を用いて 150base 両末端解析を行い、1 検体あたり 8,000 万リード相当シーケンスデータの取得を行うこと。
- ⑤ タグ配列に基づきシーケンスデータを分類すること。

(4) RNA-Seq 解析 (total RNA 対象)

〈供与物〉 total RNA 2.5ug 以上(200ng/ul 以上)

〈作業対象〉 1 検体ごとの単価契約

〈作業内容〉

- ① 供与サンプルの品質を電気泳動および濃度測定により確認すること。
- ② Illumina Stranded Total RNA Prep, Ligation with Ribo-Zero Plus を用いて、DNA ライブラリーを作製すること。
- ③ DNA ライブラリーを必要に応じて混合すること。
- ④ シーケンサーNovaSeq6000 または NovaSeq X Plus (イルミナ社) を用いて 150base 両末端解析を行い、1 検体あたり 8,000 万リード相当シーケンスデータの取得を行うこと。

⑤ タグ配列に基づきシーケンスデータを分類すること。

(5) ショットガンメタゲノム解析

〈供与物〉 ゲノム DNA 200ng 以上 (5ng/ul 以上)

〈作業対象〉 1 検体ごとの単価契約

〈作業内容〉

- ① 供与サンプルの品質を電気泳動および濃度測定により確認すること。
- ② ThruPLEX DNA-seq Kit を用いて、DNA ライブラリーを作製すること。
- ③ DNA ライブラリーを必要に応じて混合すること。
- ④ シーケンサーNovaSeq6000 または NovaSeq X Plus (イルミナ社) を用いて 150base 両末端解析を行い、1 検体あたり 4Gb 相当シーケンスデータの取得を行うこと。
- ⑤ タグ配列に基づきシーケンスデータを分類すること。

(6) 健常組織由来 DNA サンプルの全エキソーム解析 (SureSelect v7)

〈供与物〉 ゲノム DNA 1ug 以上(20ng/ul 以上), ヒトゲノム・遺伝子解析情報提供用紙

〈作業対象〉 1 検体ごとの単価契約

〈作業内容〉

- ① 供与サンプルの品質を電気泳動および濃度測定により確認すること。
- ② KAPA Hyper Prep Kit を用いてフラグメントライブラリーを作製すること。
- ③ 作成したフラグメントライブラリーから SureSelect Human All Exon V7 を用いてターゲット領域を濃縮し、タグ配列を有するプライマーを用いて PCR 増幅を行い DNA ライブラリーを作製すること。
- ④ DNA ライブラリーを必要に応じて混合すること。
- ⑤ シーケンサーNovaSeq6000 または NovaSeq X Plus (イルミナ社) を用いて 150base 両末端解析を行い、1 検体あたり 5Gb 相当シーケンスデータの取得を行うこと。
- ⑥ タグ配列に基づきシーケンスデータを分類すること。

(7) 腫瘍組織由来 DNA サンプルの全エキソーム解析 (SureSelect v7)

〈供与物〉 ゲノム DNA 1ug 以上(20ng/ul 以上), ヒトゲノム・遺伝子解析情報提供用紙

〈作業対象〉 1 検体ごとの単価契約

〈作業内容〉

- ① 供与サンプルの品質を電気泳動および濃度測定により確認すること。
- ② KAPA Hyper Prep Kit を用いてフラグメントライブラリーを作製すること。
- ③ 作成したフラグメントライブラリーから SureSelect Human All Exon V7 を用いてターゲット

ット領域を濃縮し、タグ配列を有するプライマーを用いて PCR 増幅を行い DNA ライブラリーを作製すること。

- ④ DNA ライブラリーを必要に応じて混合すること。
- ⑤ シーケンサーNovaSeq6000 または NovaSeq X Plus（イルミナ社）を用いて 150base 両末端解析を行い、1 検体あたり 25Gb 相当シーケンスデータの取得を行うこと。
- ⑥ タグ配列に基づきシーケンスデータを分類すること。

(8) 16S rRNA 解析

〈供与物〉 ゲノム DNA 200ng 以上（10ng/ul 以上）

〈作業対象〉 1 検体ごとの単価契約

〈作業内容〉

- ① 供与サンプルの品質を電気泳動および濃度測定により確認すること。
- ② 細菌 16S rRNA 遺伝子の V3-V4 領域を対象として PCR 増幅を行い、DNA ライブラリーを作製すること。
- ③ DNA ライブラリーを必要に応じて混合すること。
- ④ シーケンサーNextSeq 2000（イルミナ社）を用いて 250base 両末端解析を行い、1 検体あたり 10 万リード相当シーケンスデータの取得を行うこと。
- ⑤ タグ配列に基づきシーケンスデータを分類すること。
- ⑥ QIIME2 パイプラインを用いて系統分類解析を行うこと。

(9) 健常組織由来 DNA サンプルのヒト全ゲノムシーケンス解析

〈供与物〉 ゲノム DNA 4ug 以上（80ng/ul 以上）

〈作業対象〉 1 検体ごとの単価契約

〈作業内容〉

- ① 供与サンプルの品質を電気泳動および濃度測定により確認すること。
- ② TruSeq DNA PCR-Free を用いて、DNA ライブラリーを作製すること。
- ③ DNA ライブラリーを必要に応じて混合すること。
- ④ シーケンサーNovaSeq6000 または NovaSeq X Plus（イルミナ社）を用いて 150base 両末端解析を行い、1 検体あたり 90Gb 相当シーケンスデータの取得を行うこと。
- ⑤ タグ配列に基づきシーケンスデータを分類すること。

(10) 腫瘍組織由来 DNA サンプルのヒト全ゲノムシーケンス解析

〈供与物〉 ゲノム DNA 4ug 以上（80ng/ul 以上）

〈作業対象〉 1 検体ごとの単価契約

〈作業内容〉

- ① 供与サンプルの品質を電気泳動および濃度測定により確認すること。
- ② TruSeq DNA PCR-Free を用いて、DNA ライブラリーを作製すること。
- ③ DNA ライブラリーを必要に応じて混合すること。
- ④ シーケンサーNovaSeq6000 または NovaSeq X Plus（イルミナ社）を用いて 150base 両末端解析を行い、1 検体あたり 200Gb 相当シーケンスデータの取得を行うこと。
- ⑤ タグ配列に基づきシーケンスデータを分類すること。

(11) 腫瘍組織由来 DNA サンプルのヒト全ゲノムシーケンス解析

〈供与物〉 ゲノム DNA 4ug 以上（80ng/ul 以上）

〈作業対象〉 1 検体ごとの単価契約

〈作業内容〉

- ① 供与サンプルの品質を電気泳動および濃度測定により確認すること。
- ② TruSeq DNA PCR-Free を用いて、DNA ライブラリーを作製すること。
- ③ DNA ライブラリーを必要に応じて混合すること。
- ④ シーケンサーNovaSeq6000 または NovaSeq X Plus（イルミナ社）を用いて 150base 両末端解析を行い、1 検体あたり 300Gb 相当シーケンスデータの取得を行うこと。
- ⑤ タグ配列に基づきシーケンスデータを分類すること。

(12) ライブラリーサンプルの品質検定及び混合作業

〈供与物〉 DNA ライブラリーサンプル 20 ul 以上（10 nM 以上）

〈作業対象〉 1 検体ごとの単価契約

〈作業内容〉

- ① 供与サンプルの品質を濃度測定などにより確認すること。
- ② DNA ライブラリーを必要に応じて混合すること。

(13) ライブラリーサンプルのシーケンス解析

〈供与物〉 「(12) ライブラリーサンプルの品質検定及び混合作業」で調整したサンプル

〈作業対象〉 1 検体ごとの単価契約

〈作業内容〉

- ① シーケンサーNovaSeq6000 または NovaSeq X Plus（イルミナ社）を用いて 150base 両末端解析を行い、100Gb または 3.3 億リードペア相当のシーケンスデータの取得を行うこと。ただし提供検体に起因するデータ量不足の場合は、双方で相談のうえ対応を決定する。
- ② タグ配列に基づきシーケンスデータを分類すること。

(14) ライブラリーサンプルのシーケンス解析

〈供与物〉 「(12) ライブラリーサンプルの品質検定及び混合作業」で調整したサンプル

〈作業対象〉 1 検体ごとの単価契約

〈作業内容〉

- ① シーケンサーNovaSeq6000 または NovaSeq X Plus（イルミナ社）を用いて 150base 両末端解析を行い、300Gb または 10 億リードペア相当のシーケンスデータの取得を行うこと。
ただし提供検体に起因するデータ量不足の場合は、双方で相談のうえ対応を決定する。
- ② タグ配列に基づきシーケンスデータを分類すること。

8. 受託者の条件

- (1) 受託者が業務を解析業者に再委託する場合は、解析業者と連携し適切な業務を遂行できること。また適切な連絡体制をとることができること。
- (2) 受託者は、機密保持、知的財産等に関して本仕様書が定める受託者の責務を解析業者も負うよう、必要な処置を実施し、当センターに報告し、承認を得ること。
- (3) 全作業内容を同一施設内で実施できること。
- (4) 輸送時の供与物の品質劣化を抑えるために、解析機関が日本国内にあること。
- (5) 作業が適切に行われるために、ISO9001 の承認を持つ施設であること。

9. サンプル条件

解析を実施するサンプルの濃度、品質などの条件については、発注者と事前相談の上、決定し、発注者が受注者に提供すること。

10. 納品物

各解析結果の納品においては、以下の情報を提供することとする。

- ① 作業報告書（日本語）
- ② 解析データ（FASTQ 形式）：ハードディスクに記録し納品。
シーケンスデータは納品日から起算して 3 ヶ月間は解析業者で保存すること。

11. 納入場所

地方独立行政法人神奈川県立病院機構神奈川県立がんセンター 臨床研究所

12. その他の必要条件

- (1) 残余供与検体は、各検体種別に対する適切な方法にて廃棄または返却すること。

- (2) 本業務により、作成された資料・データ等は、すべて発注者に帰属する。
- (3) 発注者は受注者及び解析業者に対し、委託業務の実況等に関し、随時に書面または口頭による報告を求めることが出来る。
- (4) 業務の特質及び秘匿性上、受託者が業務の実施に当たって知り得た情報等は、本作業の目的以外に利用してはならない。また、他に情報を漏らしてはならないものとする。
- (5) 解析にかかる費用や送料にかかる費用等、本業務実施に要する全ての費用を含むものとする。