



Technické podmínky zadavatele

Položka č.1 Real time PCR cycler na 96 jamkové destičky s gradientovým blokem
Popis parametru
Minimální kapacita - 96 vzorků v jednom běhu
Formát - 96-ti jamkové destičky
Blok s možností nastavení teplotního gradientu
Minimální výrobcem doporučený objem jedné reakce (čím menší tím lépe) - 10 ul
Zdroj excitačního světla LED diody
Možnost detekce FAM, VIC, HEX, Texas Red, Cy5, SYBRGreenI
Kvantifikace i genotypizace pomocí TaqMan sond
Možnost HRM analýzy v základní dodávce
Simultánní snímání všech pozic nikoliv postupně
Otevřený systém nezávislý na jednom dodavateli chemikálií
Možnost multiplexu (minimálně triplex)
Možnost instalace SW na jakýkoliv PC
Garantovaná funkčnost SW (zachování jeho vlastností a stability) - bez nutnosti placeného upgrade po dobu životnosti min.7 let
Možnost obsluhy bez připojeného PC
SW moduly pro absolutní i relativní kvantifikaci, HRM, genotypizaci pomocí sond
Obslužný počítač (PC, monitor, klávesnice, myš), nebo notebook pro ovládání přístroje součástí dodávky

Technická specifikace nabízeného plnění

Položka č.1 Real time PCR cycler na 96 jamkové destičky s gradientovým blokem	Model	Výrobce
	LightCycler® 96 instrument	Roche, Švýcarsko
Popis parametru	Zadavatelem požadovaná hodnota	Uchazečem nabízená hodnota
Minimální kapacita	96 vzorků v jednom běhu, uchazeč uvede kapacitu nabízeného přístroje	ANO; nabízený přístroj LightCycler® 96 instrument (dále jenom LC96) je vybavený 96-jamkovým gradientovým PCR blokem, tj. v jednom PCR běhu lze na přístroji analyzovat 1 až 96 vzorků.
Formát	96-ti jamkové destičky, uchazeč uvede formát	ANO; nabízený přístroj LC96 měří vzorky napipetované do 96-jamkových PCR destiček nebo též do 8-jamkových PCR stripů.
Blok s možností nastavení teplotního gradientu	ANO	ANO; LC96 disponuje PCR termoblokem s možností nastavení teplotního gradientu v rozmezí teplot 37°C - 98°C.
Minimální výrobcem doporučený objem jedné reakce (čím menší tím lépe)	10 ul, uchazeč uveden min. objem jedné reakce u nabízeného přístroje	LC96 pracuje v rozmezí reakčních objemů 10 ul až 50 ul, takže nejmenší možný reakční objem je 10 ul.
Zdroj excitačního světla LED diody	ANO	ANO; LC96 je vybavený vysokosvitivou širokospektrální LED diodou jako zdrojem excitace.
Možnost detekce FAM, VIC, HEX, Texas Red, Cy5, SYBRGreenI	ANO	ANO; na přístroji LC96 je možné detekovat fluorescenční barvičky FAM, VIC, HEX, Texas Red, Cy5, SYBRGreen I, ResoLight byrvičku pro HRM analýzu a další.
Kvantifikace i genotypizace pomocí TaqMan sond	ANO	ANO; z pohledu analýzy dat je možné na přístroji LC96 detekovat a analyzovat naměřená data za účelem kvantifikace (absolutní i relativní) genové exprese i genotypizace pomocí hydrolyzačních TaqMan sond (tzv. alelická diskriminace uskutečňovaná pomocí endpoint genotypizace).
Možnost HRM analýzy v základní dodávce	ANO	ANO; nedílnou součástí dodávky přístroje LC96 bude analyzační softwarový modul pro analýzu a hodnocení dat získaných tzv. High Resolution melting analýzou.
Simultánní snímání všech pozic nikoliv postupně	ANO	ANO; inovativní konstrukce optiky u přístroje LC96 umožňuje simultánní snímání všech pozic na 96-jamkové desce najednou bez prodlevy mezi snímáním první a poslední jamky, jako tomu je u jiných systémů. Tím pádem je pro uživatele zaručena vyšší rychlost i přesnost snímané fluorescence. U přístroje LC96 je z optické hlavy přístroje ke každé jamce na 96-

Příloha č. 2

		jamkové destičce fixně vedeno jedno optické vlákno sloužící na excitaci a druhé optické vlákno sloužící na sbírání emitovaného signálu. Pozice vláken je fixní a v průběhu snímání a detekce se nemění.
Otevřený systém nezávislý na jednom dodavateli chemikálií	ANO	ANO; přístroj LC96 je z pohledu používané reakční chemie (master mixy, sondy, fluorescenční barvičky) zcela otevřený a umožňuje používat reagenty dalších výrobců a dodavatelů.
Možnost multiplexu (minimálně triplex)	ANO	ANO; přístroj LC96 umožňuje detekovat v jedné reakci (jamce) až čtyři různé fluorescenční barvičky, protože disponuje kombinací čtyř excitačních filtrů a čtyř emisních filtrů. Z toho vyplývá, že je schopen detekovat až kvadruplexní reakci. Přístroj LC 96 disponuje následujícími excitačními/emisními možnostmi: excitace 470 nm/emise 514 nm (pro detekci fluoroforů: SYBR, FAM, ResoLight dye) excitace 533 nm /emise 572 nm (pro detekci fluoroforů: VIC, Hex, Yellow555); excitace 577 nm/emise 620 nm (pro detekci fluoroforů: Red610, Texas Red), excitace 645 nm/emise 697 nm (pro detekci fluoroforů: Cy5).
Možnost instalace SW na jakýkoliv PC	ANO	ANO; obslužný a analyzační software je možné instalovat na jakýkoliv počítač uživatele (i osobní) bez nutnosti dokupování dalších placených licencí.
Garantovaná funkčnost SW (zachování jeho vlastností a stability) - bez nutnosti placeného upgrade po dobu životnosti min. 7 let	ANO	ANO; výrobce garantuje plnou funkčnost a kompatibilitu operačního a analyzačního software bez nutnosti placeného upgrade software po dobu životnosti přístroje min. 7 let.
Možnost obsluhy bez připojeného PC	ANO	ANO; přístroj LC96 je možné obsluhovat přímo přes dotykový displej přístroje, tj. bez nutnosti mít k přístroji připojený obslužný počítač
SW moduly pro absolutní i relativní kvantifikaci, HRM, genotypizaci pomocí sond	ANO	ANO; nedílnou součástí dodávky přístroje LC96 bude analyzační software pro sběr a analýzu dat s následujícími moduly: Absolutní kvantifikace, Relativní kvantifikace, Endpoint genotypizace s použitím TaqMan sond (pro alelickou diskriminaci), Tm Calling (vyvolání křivky tání), Kvalitativní detekce, High resolution melting analýza
Obslužný počítač (PC, monitor, klávesnice, myš), nebo notebook pro ovládání přístroje součástí dodávky	ANO	ANO; nedílnou součástí dodávky přístroje LC96 bude notebook pro ovládání přístroje a analýzu naměřených dat.



Podrobná technická specifikace systému real-time PCR LightCycler® 96

Přístroj LightCycler® 96 je gradientový real-time PCR cykler. Toto zařízení je vhodné pro provádění polymerázové řetězové reakce (PCR reakce) s možností monitorování jejího průběhu online v reálném čase. LightCycler® 96 umožňuje kvalitativní i kvantitativní stanovení množství DNA a detekci genové exprese pomocí absolutní, nebo relativní kvantifikace cílového a referenčního genu. Zařízení lze také využít pro mutační analýzu a genotypizaci vzorků pomocí specificky navržených sond pokrývajících jednotlivé monitorované mutace. LightCycler 96® lze rovněž využít pro typizační techniky jako např. high resolution melting (HRM) analýzu, tedy pro detekci odlišností ve vzniklých amplikonech (bez nutnosti jejich sekvenace) a získaná data analyzovat prostřednictvím dodávaného analyzačního software (který je nedílnou součástí dodávky).



Nabízený systém je určený pro simultánní „online“ měření 1 až 96 vzorků v reálném čase v jednom PCR běhu, přičemž vzorky jsou analyzované v jednotlivých samostatných PCR 8-zkumavkových stripech (každá o objemu 0,2 ml), resp. 96-jamkových PCR destičkách. K dispozici jsou přímo od dodavatele jednotlivé 8-zkumavkové PCR stripy včetně vložek i 96-jamkové destičky, nicméně systém je z pohledu používaného spotřebního materiálu otevřený a je možné používat i stripy jiných dodavatelů.

Pracovat lze z pohledu finálního objemu v reakčních zkumavkách v rozsahu 10 ul – 50 ul.

V nabídce „ready-to-use“ souprav dodavatele jsou optimalizované master mixy přímo na LightCycler® 96 např. pro sledování genové exprese (tzv. FastStart Essential Green Master mix nebo master mix pro použití s hydrolyzačními „TaqMan“ sondami s názvem FastStart Essential DNA Probes Master) i „ready-to-use“ High Resolution Melting master mix dodavatele (tzv. LightCycler® 480 High Resolution Melting Master mix nebo samotná fluorescenční barvička určená pro HRM analýzu s názvem LightCycler® 480 ResoLight dye). Lze však bez problémů používat i reagentie a „ready-to-use“ master mixy jiných dodavatelů (systém je z tohoto pohledu zcela otevřený).

Přístroj je dodáván včetně ovládací datové stanice (notebook s operačním systémem Windows 7). Součástí dodávky je i přátelský uživatelský ovládací a analyzační software s možností analýzy absolutní i relativní kvantifikace genové exprese. U absolutní kvantifikace je samozřejmostí kvantifikace produktů pomocí standardní křivky. Samozřejmostí je analýza křivek tání (tzv. analýza „Tm calling“) a tzv. „endpoint genotyping“ analýza. Dále software obsahuje analyzační modul pro high resolution melting analýzu detekce známých či doposud neznámých mutací a kvalitativní detekci. Přístroj nicméně lze ovládat i bez připojení k řídicímu počítači, a to přímo pomocí dotykového displeje nebo pomocí PCR profilu uloženého na USB disku. Zajímavou funkcí je tzv. notifikace pomocí emailu, kde uživatel dostává po skončení běhu výsledky přímo na svoji emailovou adresu. Nové verze software jsou poskytovány zdarma. Software je možné instalovat bez licenčního omezení na jakýkoliv počítač uživatele.

LightCycler® 96 jako zdroj excitace využívá LED diodu. Detekce fluorescence je uskutečňována pomocí CCD kamery systémem fixních optických vláken se čtyřmi excitačními a čtyřmi emisními filtry. Podporovanými detekčními formáty jsou interkalační fluorescenční barvičky typu SYBR Green I nebo High Resolution Melting barvičky, dále hydrolyzační sondy typu „TaqMan“.

Příloha č. 2

Na přístroji LightCycler[®] 96 má k dispozici 4 excitační a 4 emisní filtry a je na něm možné v současné době detekovat následující fluorescenční barvičky (rozsah excitačních/emisních vlnových délek v nm):

470 nm/514 nm (SYBR Green I, FAM, ResoLight Dye)

533 nm/572 nm (VIC, Hex, JOE, Yellow555)

577 nm/620 nm (Red610, Texas Red)

645 nm/697 nm (Cy5)

Výsledkem je možnost na přístroji LightCycler[®] 96 uskutečnit bez problému detekci kvadruplexní PCR reakce (tzv. „four color assay“), tedy simultánně detekovat v jedné PCR zkumavce až čtyři různé fluorescenční barvičky bez nutnosti barevné kompenzace.

Přístroj LightCycler[®] 96 je malý, kompaktní gradientový real-time PCR cycler s hmotností cca. 25 kg a rozměry 40 cm x 40 cm x 53 cm, pracující tiše (produkuje hluk měřený jako 43 dB) a s nízkou spotřebou elektrické energie.

Přístroj disponuje funkcí teplotního gradientu v rozmezí teplot 37°C – 98°C, s možností max. rozmezí gradientu v rámci jedné desky 20°C. Teplotní přesnost je u tohoto přístroje $\pm 0,2^\circ\text{C}$. Teplotní uniformita $\pm 0,4^\circ\text{C}$ (rozsah max-min) při SD < 0,1°C.

Pro ohřev/chlazení využívá technologii „Peltier-based“ článků (37°C – 98°C), které mu zaručují rychlost ohřevu 4,4°C/s a rychlost chlazení 2,2°C/s. Typický PCR běh tedy trvá méně než 40 minut (pro 3-krokovou PCR se 40 cykly).

POLOŽKY ROZPOČET

	Počet ks	Jednotková cena za položku bez DPH v Kč	Celkem za položku bez DPH	Celkem za položku výše DPH	Celkem za položku s DPH
Real time PCR cydler	1	450 519 Kč	450 519 Kč	94 609 Kč	545 128 Kč
Obslužný notebook	1	14 985 Kč	14 985 Kč	3 147 Kč	18 132 Kč
Celkem cena bez DPH					465 504 Kč
Celkem DPH					97 756 Kč
Celkem cena s DPH					563 260 Kč