

項番	種別	内容	仕様書番号	回答
1	ゲノムシーケンス	DNAサンプルの品質をQubit（サーモフィッシャーサイエンティフィック社）あるいは同等の方法による濃度測定により確認すること。 ゲノムDNAを数百bpに断片化して、96wellプレート単位で処理できるラボラトリーオートメーション装置（自動分注器）を用いて550 bpインサートのDNAライブラリ作製をすること。DNA量が条件に満たない場合は、事前に協議の上、350bpプロトコルでの実施を検討すること。	4.1 4.2	
2		DNA Shearing システム（Covaris社）を用いた超音波法でDNAを断片化すること。	4.3	
3		ライブラリ作製にはTruSeq DNA PCR-Free HT Library Prep Kit（イルミナ社）を用いてIndex Hoppingが生じない対策を施していること。	4.4	
4		解析において、検体間の品質の差を最小限にするために自動分注装置を用いる等の対策を講じること。	4.5	
5		DNAライブラリの品質検定はイルミナ社シーケンサーMiSeq systemまたはiSeq systemを用いて取得したシーケンスリードを用いてインサートサイズ、およびDNA濃度を測定し、DNA濃度に基づき検体間のデータ出力量を補正すること。ライブラリライブラリのインサートサイズは、550bpプロトコルの場合は400～750 bpであることを確認すること。350bpプロトコルの場合は200～500bpであることを確認すること。ライブラリライブラリのDNA濃度は2.1 nM以上あることを確認すること。この基準を満たさない場合は、残余検体を用いて再作製すること。再作製が難しい場合は、本学からの追加検体の提供等の対応方法を協議すること。	4.6	
6		作製したライブラリは、イルミナ社シーケンサーNovaSeq6000またはNovaSeq X Plusを用いて、150base長ペアエンドシーケンスを行い、シーケンサー付属のソフトウェアにより塩基配列（リード配列）を得ること。 1サンプルあたり複数レーンでシーケンスを行ってデータを取得すること。 得られたシーケンスデータは、レーンごとに精度情報（QV30）を算出し、QV30以上の塩基割合が75%以上であることを確認すること。75%未満の場合は、協議の上、そのシーケンスデータをすべて廃棄する、または一部利用することを決定すること。	4.7 4.8 4.9	
7		各検体のシーケンス量はfastpプログラムで算出されたDuplicated readを除いて検体当たりのデータ量（Gbase）、重複リード（Duplicated Read）の割合を算出すること。 検体当たり、重複リードを除き900億塩基（90G塩基）以上のデータを取得すること	4.10	
8	バイオインフォマティクス解析 FASTQデータの作成	シーケンスデータは検体ごとに、ペアドエンドの（2 ファイル1組の）fastqファイル（gz圧縮）を適切な命名規則で作成すること。	5.1	
9	バイオインフォマティクス解析 各多型のジェノタイピング （SNP/InsDel・CNV・SV・HLA）	全ての検体のFASTQデータを対象に、Illumina DRAGEN Bio-IT Platformを用いて以下の解析を行い、適切な命名規則でファイルを作成すること。この際、参照配列はGRCh38を用いること。本委託業務終了後に新たに全ゲノムシーケンスを委託した場合、本委託業務で得られた全ての検体のFASTQデータを含めて以下の解析を行うこと。 ・SNP/InDel解析（cram/gVCF） ・CNV解析（tsv） ・SV解析（vcf） ・HLA解析（json）	5.2	
10	バイオインフォマティクス解析 SNP/InDelのJoint Callingとアノテーション	全てのgVCFファイルと用いてIterative gVCF Genotyper analysis（Joint Calling --mode joint-genotyping）を実施し、VCFファイルを作成すること。得られたすべての多型に対し、Variant Effect Predictor を用いてアノテーションを付与したVCFファイルを別途作成すること。本委託業務終了後に新たに全ゲノムシーケンスを委託した場合、本委託業務の全gVCFファイルと、新規委託業務のgVCFファイルを統合し、同様の解析を行うこと。	5.3	
11	バイオインフォマティクス解析 納品とファイル保存期間	仕様書4.1～4.3において下線で指定されたファイルは、指定するサンプルコードを含む適切な命名規則に従ったファイル名にて、メタデータ（解析コマンド、ログ等）とともに納品すること。SNP/InDelのgVCFファイル（*.vcf.gz）は、Joint Callingで再利用される。そのため、委託者からの削除指示があるまで、受託者における保存期間とすること。これ以外のファイルは委託元への納品完了から6ヶ月を受託者における保存期間とすること。	5.4	
12		ライブラリ作製、シーケンスについて異常が生じた場合は作業進行、再作業について委託者と協議すること。	6.1	
13		検体の取違を防止するため、検体管理システムを用いた検体・データ管理システムに基づいて業務を実施できること。	6.2	

14	技術要件（全般）	ラボラトリーオートメーション装置（自動分注器）、イルミナ社シーケンサー NovaSeq6000またはNovaSeq X Plusを国内同一施設に複数台設置し、遅延なく業務を行える体制を備えていること。	6.3	
15		解析情報の拡散リスクを減少するため、また均一な品質のデータを得るために、全作業内容を同一施設内で実施できること。他の事業者にも再委託しないこと。	6.4	
16		輸送時の供与物の品質劣化を抑えるために、解析時にトラブル等が認められた場合迅速に対応策を決定するため、解析施設は日本国内にあること。	6.5	
17		作業が適切に行われるために、CAP-LAP、ISO13485および衛生検査所の承認を持つ施設であること。	6.6	
18		解析完了後、委託者と残余検体（供与サンプル、作製ライブラリ）の返送について協議すること。甲に返送が必要な場合における返送費用は、乙の負担とする。	6.7	
19		データストレージ装置にアクセス制限ならびにファイル変更履歴確認システムを備えていること。また解析サーバーは国外からアクセスできないものを使用すること。	6.8	
20		委託業務の実施状況に関して問い合わせを行った場合、書面又は口頭による報告を、2営業日以内に行うことができること。更に、要望に応じて査察対応が可能であること。	6.9	
21		NovaSeq6000またはNovaSeq X Plusを使用したヒト全ゲノムシーケンス解析について、年間4,000検体以上の解析実績があること。また、国立研究開発法人日本医療研究開発機構の実施する研究事業からの委託業務として、ヒト全ゲノムシーケンス解析の受託実績が年間3,000検体以上あること。	6.10	
22		全ゲノムシーケンスデータ取得について、外部精度評価を受けていること。	6.11	