**Załącznik 1b**

**Zestaw do ilościowego oznaczania kwasów nukleinowych (real-time PCR i ddPCR) oraz białek (western blot) wraz z kompletem urządzeń i wyposażeniem** **oraz z przeszkoleniem pracowników**

**System do detekcji ekspresji genów w czasie rzeczywistym oraz do oceny ilościowej transkryptu metodą cyfrowego PCR - Droplet Digital PCR System. System   
do elektroforezy agarozowej. System do elektroforezy poliakrylamidowej, wraz z urządzeniem do transferu i transiluminatorem.**

W skład zestawu wchodzi Termocykler z detekcją fluorescencji w czasie rzeczywistym, manualny generator emulsji, czytnik próbek, komputer do obsługi systemu i analizy danych, termocykler 96-dołkowy, zgrzewarka do folii na płytkach 96 dołkowych, aparatura do elektroforezy pionowej (poliakrylamidowej) i poziomej (agarozowej) wraz z zasilaniem, zestawem umożliwiającym wylewanie żeli, urządzeniem umożliwiającym transfer białek na membranę, transiluminatorem do dokumentacji żeli i membran, oprogramowaniem do zbierania i analizy wyników.

W skład zestawu wchodzi:

**Real-Time PCR charakteryzujący się poniższymi parametrami**:

Jednostka zawierająca podstawę z dotykowym wyświetlaczem (regulacja ustawienia 15˚   
– 22˚) oraz blokiem grzejno-chłodzący z układami Peltier’a

Możliwość podłączenia myszy komputerowej, klawiatury, skanera kodów.

Blok grzejnego o pojemności min. 96 próbek umożliwiający prowadzenie reakcji   
w standardowych niskoprofilowych mikropłytkach lub paskach probówek

Zakres temperatury bloku 4 - 100°C

Dokładność ustalenia temperatury nie gorsza niż ±0,2 °C w temp. 90 °C

Równomierność rozkładu temperatury na płycie nie gorsza niż ±0,3 °C osiągane w czasie 10 sek. dla temp. 90 °C

Zakres wielkości próbki minimum: 1 – 50 µl

Maksymalna szybkość zmian temperatury, co najmniej 5 °C/s, średnia 3.3 °C/s

Musi posiadać gradient termiczny umożliwiający jednoczesną optymalizację warunków reakcji, dla, co najmniej 12 reagentów

Maksymalna rozpiętość programowalnego zakresu gradientu termicznego, co najmniej 24 °C. Gradient musi być dynamiczny

Zakres temp. ustawienia gradientu 30 – 100 °C

Pokrywa z grzaniem do 110 °C w minimalnym zakresie 30 - 110 °C

Metoda pomiarowa: fluorescencja

Źródło światła: diody LED

Zakres spektralny światła wzbudzającego i emitowanego nie mniejszy niż 450 – 730 nm

Multipleks 5 kanałowy – możliwość oznaczania jednocześnie do 5 genów w jednej próbce

Każdy kanał pomiarowy musi być wyposażony w indywidualną diodę LED o długości światła optymalnej do barwników przypisanych do każdej z nich.

Urządzenie wyposażone w komplet filtrów światła wzbudzającego i emitowanego zainstalowanych dla każdego z 5 kanałów

Gotowy system do detekcji reakcji z użyciem barwników: SYBR GREEN, FAM, HEX, VIC, TET, Cal Gold 540, ROX, TEXAS RED, Cal Red 610, Cy5, Quasar 670, Quasar 705. Urządzenie musi być fabrycznie skalibrowane do pracy z tymi barwnikami bez potrzeby przeprowadzanie takiej procedury przez użytkownika.

Dodatkowy kanał dostosowany do techniki FRET (wzbudzenie FAM, detekcja HEX)

Kilka trybów rejestracji danych w tym opcja szybkiego pomiaru dla pojedynczego kanału

Możliwość programowania płytki doświadczalnej przed, w trakcie lub po zakończeniu pomiaru

Połączenie do komputera poprzez port USB 2.0. Możliwość bezpośredniego połączenia do Wi-Fi z użyciem dedykowanego adaptora.

Oprogramowanie musi zapewniać akwizycję i obróbkę wyników

Tworzenie krzywej kalibracyjnej umożliwiającej oznaczania ilościowe

Analiza krzywej topnienia

Analiza względnego stężenia DNA „gene expression” poprzez pomiar delta CT lub delta delta CT z wieloma genami referencyjnymi

Możliwość jednoczesnej analizy ekspresji genów dla próbek pochodzących z różnych pomiarów

Analiza z zaprogramowanym punktem końcowym pomiaru „end-point”

Analiza alleli (dyskryminacja alleli)

Możliwość eksportu zapisanych wyników analiz do innych aplikacji (Microsoft Excel, Word, PowerPoint)

Oprogramowanie, jako zintegrowane z nim funkcje, musi zawierać możliwość analizy ANOVA oraz za pomocą testu normalności Shapiro-Wilka oraz umożliwiać analizę genów pod kątem ich stabilności w celu wybrania genu/ów referencyjnych

Urządzenie musi umożliwiać analizę HRM z wykorzystaniem opcjonalnie dostępnego, w ofercie producenta, oprogramowania do analizy krzywych topnienie o wysokiej rozdzielczości, minimalnie dwie licencje

**Generator emulsji:**

Umożliwia pracę z kartridżami, co najmniej na osiem próbek każdy.

Ma możliwość rozbudowy systemu o automatyczną stację generującą krople (tzw. Auto Droplet Generator) zwiększającą przepustowość analizowanych prób (generowanie kropel dla płytki 96-dołkowej w czasie mniej niż 45 min.)

Generator umożliwia wytwarzanie minimalnie do 20000 pojedynczych kropli emulsji olejowej (objętości ok. 1nl każda) z wykorzystaniem 20 ul mieszanin reakcyjnych do PCR w czasie nie dłuższym niż 3 min.

Wytworzona olejowa zawiesina emulsyjna pozwala na amplifikację zawartego w niej produktu z wykorzystaniem techniki PCR

**Czytnik reakcji w olejowej zawiesinie emulsyjnej:**

Umożliwia odczyt minimalnie 32 próbek na godzinę. Czytnik współpracuje z 96-dołkowymi płytkami.

Czytnik pozwala na pracę z barwnikami fluorescencyjnymi FAM oraz VIC (HEX alternatywnie). System współpracuje z sondami typu TaqMan. System pozwala na użycie i odczyt barwnika EvaGreen

Czytnik jest wyposażony w dwie indywidualne diody LED do wzbudzenie barwników oraz dwa niezależnych kanałów fotopowielacza (każdy do oddzielnego kanału) pozwalający na jednoczesną automatyczną detekcję w obu kanałach

System zapewnia liniowy zakres dynamiczny wynoszący minimalnie 5 rzędów wielkości dla próbki

System umożliwia detekcję jednaj kopii analizowanej sekwencji w próbce DNA oraz rozróżnienie minimalnie 4-5 kopii pomiędzy analizowanymi próbkami.

Umożliwia osiągnięcie precyzji w zakresie ±10%

**Oprogramowanie:**

Umożliwia wyświetlanie wyników pomiarów fluorescencji w pojedynczej kropli emulsyjnej dla obu kanałów FAM i VIC (HEX) oraz EvaGreen

Prezentuje wyniki w multipleksie conajmniej 4 targetów przy użyciu 2 fluoroforów na kroplę.

Pozwala na analizę stężenia (kopie/µl i kopie/20µl) dla każdej próbki.

Umożliwia określanie ilości kopii, detekcję mutacji, analizę ekspresji genów

Umożliwia łączenie wyników z dołków w powtórzeniach

Umożliwia eksport danych w formie tabel czy wykresów do Excela

Umożliwia generowanie raportów w pdf

Użytkownik ma możliwość manualnego dopasowania wartości progowej dla analizy całej płytki lub indywidualnej próbki.

**Urządzenie sterujące o min. parametrach:**

Pamięć RAM co najmniej 32GB

Dysk SSD co najmniej 1TB,

Procesor minimum 10 rdzeniowy, od 1,70GHz do 4,70 GHz

Zainstalowany system operacyjny co najmniej Windows 10 Microsoft® Windows™

Ekran minimum 15” Rozdzielczość domyślna Full HD 1920x1080

**Zaklejarka do folii na płytkach 96 dołkowych o minimalnych parametrach**:

Nagrzewanie do zaprogramowanej temp. do 3 minut.

Musi posiadać ekran dotykowy

Zakres temperatury 100-190oC

Zakres czasu zaklejania 0.5–10.0 sek

**Termocykler o następujących parametrach:**

Pojemność bloku: 96 x 0.2 ml probówki, 48x 0.5ml probówki lub 1x płytka 96-dołkowa

Objętość prób: 1–125 μl (10–125 μl zalecane)

Maksymalna szybkość zmiany temperatury: [°C/sec]: 2.5°C/sek

Średnia szybkość zmiany temperatury, [°C/sec]: 2°C/sek

Rodzaj bloku: Stały

Atesty elektryczne: IEC, CE

Pamięć min.: 4.6 GB

Poziom hałasu: <90 dB

Rodzaj podnoszenia pokrywy: Automatyczna za pomocą wyboru opcji ekranu dotykowego

Ekran dotykowy min:8 cali LCD

Możliwości programowania

Zabezpieczenia: Ochrona hasłem oraz tryb bezpieczny

Raportowanie: Możliwość eksportu raportów z pracy urządzenia oraz systemowych

Zautomatyzowana pokrywa – do integracji z robotyką automatyki

Widoczny status pracy — światło odzwierciedlające stan instrumentu jest widoczne z dużej odległości

Dostęp do dysku sieciowego dla doskonałego zarządzania danymi

Wewnętrzny system operacyjny: Linux

Komunikacja: WiFi, BR.io, USB A 2.0, Ethernet

Metoda grzania i chłodzenia: Peltier

Grzanie pokrywy min.: 30–110°C

Zakres temperatur bloku min.: 4–100°C

Dokładność temperaturowa: +/- 0.2°C w 90°C

Jednorodność temperaturowa: +/- 0.4°C dołek do dołka w ciągu 10 sekund od osiągnięcia 90°C

Zakres temperatur gradientu min.: 30–100°C

Programowalny zakres gradientu min.: 8 rzędów, 1–24°C

**System do elektroforezy poziomej w żelach agarozowych**

System zawierający

Aparat do elektroforezy poziomej żeli agarozowych min 7x10cm, wraz z kablami zasilającymi i pokrywą.

Po 2 grzebienie 8 i 15 dołkowe

2 tacki do przenoszenia żeli z materiału transparentnego dla UV, pasujące do aparatu do elektroforezy wraz z zaślepkami umożliwiającymi wylanie żelu

Zasilacz kompatybilny z aparatem do elektroforezy, z możliwością programowania mocy w minimalnym zakresie: 10–300 V, dokładność 1V, 4–400 mA, dokładność 1 mA, moc maksymalna min 75W.

**System do elektroforezy pionowej w żelach poliakrylamidowych**

W skład zestawu wchodzą:

Aparat do elektroforezy pionowej wraz z pokrywą okablowaniem umożliwiający jednoczesny rozdział 4 żeli o wymiarach minimalnych 8 x 10 cm.

Komplet akcesoriów umożliwiających samodzielne, jednoczesne przygotowanie 6 żeli (stojaki z gumkami zapobiegającymi wyciekaniu żeli, uchwyty spinające szkiełka, 10 szkiełek z separatorami 1mm, 10 szkiełek przykrywających, po 5 sztuk grzebieni do żeli 1mm z 10 i 15-ma zębami, 5 rozdzielaczy do szkiełek, 2 szkiełka zaślepiające).

Zasilacz zapewniający stałe warunki prądowe, minimalnie: 5–250 V, z dokładnością do 1 V,  
0,01–3 A, z dokładnością do 0,01 A, 1–300 W, z dokładnością do 1W, kompatybilny z aparatem do elektroforezy oraz urządzeniem do transferu. Z możliwością jednoczesnego zasilania do 4 urządzeń. Z zabezpieczeniami: wykrywanie braku obciążenia; szybkie wykrywanie zmian rezystancji, wykrywanie nieszczelności uziemienia, wykrywanie przeciążenia/zwarcia, ochrona przeciwprzepięciowa, ochrona przed przegrzaniem.

**Urządzenie do szybkiego transferu białek i kwasów nukleinowych z żelu na membranę**

Specyfikacja:

Aparat do turbo transferu dla 1-2 żeli midi („kanapka” do transferu o wymiarach 8,5 x 13,5 cm) lub 4 mini („kanapka” do transferu 7 x 8,5 cm)

Aparat wyposażony w 2 zamykane kasety

Możliwość prowadzenia transferu w 2 kasetach niezależnie od siebie

Urządzenie posiada zintegrowany zasilacz

Urządzenie umożliwia przeprowadzanie transferu półsuchego tradycyjnego lub szybkiego

Możliwość przeprowadzenia szybkiego transferu dla białek o ciężarze 5-150 kDa (Rapid blot transfer) w czasie 3 min dla żeli mini lub midi w technologii

Możliwość przeprowadzenia szybkiego transferu dla 1-4 mini lub 1-2 midi żeli w jednym cyklu z wykorzystaniem protokołu 7-minutowego transferu dla białek o ciężarze do 150 kDa

Możliwość przeprowadzenia szybkiego transferu dla 1-4 mini lub 1-2 midi żeli w jednym cyklu z wykorzystaniem protokołu 10-minutowego transferu dla białek o ciężarze 25-300+ kDa

Anoda: Płytka platynowo-tytanowa (tytan powlekany platyną)

Katoda: Stal nierdzewna

Wymiary obszaru roboczego (dolnej elektrody): min 18 x 14.5 cm

Możliwość aktualizacji oprogramowania urządzenia poprzez wbudowany port USB (tylko do aktualizacji)

Możliwość zapisania do 25 programów (protokołów), pozwala na wprowadzanie i zapisanie własnych protokołów lub modyfikowanie istniejących protokołów.

Sygnał dźwiękowy po zakończeniu pracy

Powiadomienia użytkownika w przypadku:

- awarii zasilania

- braku obciążenia kasety

- braku kasety

- zakończenia pracy urządzenia

W zestawie rolka do usuwania pęcherzyków powietrza

Dostępne kompatybilne zestawy odczynników i materiałów do przeprowadzania szybkiego transferu.

**System do obrazowania żeli i blotów**

System do obrazowania żeli i blotów musi umożliwiać wizualizację, zapis i analizę próbek znakowanych fluorescencyjnie, kolorymetrycznie, chemiluminescencyjnie, oraz w technologii bez wybarwiania żeli „Stain-Free”

Musi posiadać zintegrowaną mini-ciemnię optyczną z wbudowaną prowadnicą służącą do mocowania dedykowanych do wybranej aplikacji tac z powierzchnią zdjęcia co najmniej 21 cm X 16.5 cm ±0,5 cm. Dostępne min. trzy tace na próbki do różnych aplikacji obrazowania, które są automatycznie rozpoznawane, po umieszczeniu w urządzeniu. System automatycznie dobiera parametry obrazowania i opcje oprogramowania w zależności od wybranej aplikacji. Każda z dostępnych aplikacji posiada graficzną ikonę z kolorem tacy, która daje informację użytkownikowi której tacy należy użyć do danej aplikacji.

Prowadnica musi być wysuwana z urządzenia w celu umieszczenia żelu lub blotu.

Zbliżanie i oddalanie od próbki (zoom) wykonywany za pomocą poruszającej się kamery. Wymagane co najmniej 3 zdefiniowane poziomy zbliżenia dla każdej aplikacji.

Rozmiary piksela w kamerze CCD powinny wynosić 4,5 mm x4,5 mm ±0,5 mm

Zakres dynamiczny sygnału kamery musi wynosić min. 4 rzędy wielkości (65 535 odcieni szarości)

Programowalne przez użytkownika tryby automatycznej i ręcznej akwizycji obrazów.

Tryb akwizycji z akumulacją obrazów pośrednich umożliwiający optymalny dobór czasu akwizycji dla chemiluminescencji

System musi być wyposażony tacę do aplikacji chemiluminescencji, UV oraz stain-free dedykowanej do barwników takich jak: chemiluminescencyjne, Stain-free, EtBr, SYBR® Green, SYBR® Safe, SYBR® Gold, GelGreen, GelRed, Fluorescein, OliGreen, Oriole™, SYPRO Ruby, SYTO 60, Coomassie Blue, Alexa Fluors (488, 546, 647, 680, 790), DyLight Fluors (488, 550, 650, 680, 800), IR (680RD, 800CW), Starbright ( 700, 520).

Muszą być dostępne i zainstalowane źródła światła przechodzącego przez próbkę:

1. Światło UV - 302 nm,

2. Światło białe

Muszą być dostępne i zainstalowane źródła światła oparte na diodach LED, które obejmują długości fali minimum w zakresie:

1. Światło niebieskie – podświetlenie z góry 460−480 nm

2. Światło zielone – podświetlenie z góry 530−540 nm,

3. Światło czerwone – podświetlenie z góry 630−650 nm,

4. Światło koloru daleka czerwień – podświetlenie z góry 650−670 nm,

5. Światło podczerwone – podświetlenie z góry 760−770 nm,

Muszą być dostępne i zainstalowane filtry emisyjne, które obejmują długości fali minimum w zakresie:

1. 580 - 600 nm

2. 520 - 540 nm

3. 580 - 600 nm

4. 680 - 710 nm

5. 710 - 730 nm

6. 820 - 850 nm

Musi być dostarczona taca konwersji do światła niebieskiego do pracy z barwnikami GelGreen oraz SYBR® Stain

Musi być dostarczona taca konwersji do światła białego do pracy z Coomassie Blue, barwionymi miedzią, srebrem, cynkiem. Musi być dostępna taca niebieska do aplikacji do kwasów nukleinowych.

Urządzenie musi posiadać funkcję korekcji niedoskonałości układu optycznego – Urządzenie jest skalibrowane fabrycznie, nie wymagana jest kalibracja w siedzibie użytkownika.

Urządzenie musi posiadać elastyczny zakres składania pikseli ( tzw: binning) dla co najmniej sześciu poziomów: 1x1, 2x2, 3x3, 4x4, 6x6, 8x8 w aplikacjach chemiluminescencyjnych, dalekiej czerwieni i bliskiej podczerwieni.

Panel przedni musi być wyposażony w ekran dotykowy, o rozmiarze, co najmniej 12”, służący do sterowania systemem z wbudowanym komputerem, zbierania oraz zarządzania zapisanymi, w formie obrazów, danymi. Pojemność dysku, co najmniej 120 GB.

Urządzenie wyposażone, w co najmniej 4 porty USB i port Ethernetowy. Możliwość podłączenia myszki, klawiatury oraz drukarki termicznej bezpośrednio do urządzenia.

Urządzenie do sterowania i zbierania danych nie wymaga podłączenia do komputera PC. Oprogramowanie do akwizycji zdjęć umożliwia zdefiniowanie kont, chronionych hasłem dla wielu użytkowników. Oprogramowanie do akwizycji zdjęć posiada instrukcję w formie „samouczka” wyjaśniające obsługę i funkcję w danym oknie oraz przycisk przywołania „samouczka”, dostępny z głównego panelu.

Przenoszenie danych za pomocą sieci i przenośnej pamięci USB w formacie tif, jpeg, scn

Metody pomiarowe muszą umożliwiać obróbkę zdjęć oraz raportowanie wyników

Oprogramowanie do analizy musi umożliwiać tworzenie krzywych kalibracyjnych i analizę ilościową

Musi być dostępna nielimitowana ilość licencji programu do analizy obrazu, obliczeń ilościowych i jakościowych. Licencja musi umożliwiać analizę zdjęć dla dowolnej liczby użytkowników w tym samym czasie.

Oprogramowanie musi umożliwiać obróbkę obrazu (obracanie o dowolny kąt, negatyw, regulacja jasności i kontrastu pod kątem wybranego fragmentu lub całego żelu)

Oprogramowanie musi posiadać funkcję normalizacji wykorzystującą technologię Stain-Free dedykowaną dla „białek całkowitych”. Funkcja normalizacji do pojedynczego białka w opcji chemiluminescencji i fluorescencji.

Oprogramowania musi umożliwiać automatyczne rozpoznawanie ścieżek i prążków oraz automatyczne wyznaczanie mas cząsteczkowych.

**Szkolenie min 10 pracowników na terenie ANS w Nowym Targu, obejmujące pełną funkcjonalność urządzenia, trwające 3 dni.**

**Gwarancja na zestaw: 24 miesiące.**

**Usługa serwisowa wynikające z gwarancji: czas reakcji do 24 godzin od zgłoszenia   
w formie elektronicznej, naprawa w ciągu 5 dni roboczych, w przypadku braku takiej możliwości zapewnienie urządzenia zastępczego o tożsamych parametrach.**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  |  | **Proszę uzupełnić** |
|  | **Nazwa/typ/ model oferowanego produktu**  *(proszę rozpisać zgodnie ze sprzętem, urządzeniami)* |  |
|  | **Producent, rok produkcji**  *(proszę rozpisać zgodnie ze sprzętem, urządzeniami)* |  |
|  | **Parametry oferowane**  *(Proszę opisać lub wskazać poprzez zaznaczenie tak/nie)* |  |