

OPIS PRZEDMIOTU ZAMÓWIENIA

Przedmiot zamówienia: Kompleksowa usługa wytworzenia peptydowych hydrożeli opartych na RADA16-I: mieszaniny hydrożeli funkcjonalizowanych mimetykami peptydowymi IL-4-Y i SDF-1-X oraz niefunkcjonalizowanego hydrożelu RADA16-I.

Opis przedmiotu zamówienia: Przedmiotem zamówienia jest sukcesywne świadczenie kompleksowej usługi wytworzenia dwóch produktów końcowych:

1. mieszaniny peptydowych hydrożeli RADA16-I funkcjonalizowanych mimetykami IL-4-Y oraz SDF-1-X;
2. niefunkcjonalizowanego hydrożelu RADA16-I, przeznaczonego do stosowania jako kontrola.

Wytworzenie produktów końcowych obejmuje syntezę, oczyszczanie i charakterystykę peptydu RADA16-I oraz peptydów hybrydowych zawierających sekwencje SDF-1-X i IL-4-Y, przygotowanie odpowiednich hydrożeli, ich żelowanie i mieszanie w wymaganych proporcjach, walidację fizykochemiczną i biologiczną oraz sukcesywną dostawę gotowych produktów.

Zakres kompleksowej usługi obejmuje w szczególności:

- syntezę peptydu RADA16-I;
- syntezę i oczyszczanie peptydów hybrydowych R1-SDF-1-X i R4-IL-4-Y;
- przygotowanie hydrożeli funkcjonalizowanych poprzez zmieszanie każdego z peptydów hybrydowych z niemodyfikowanym RADA16-I;
- przygotowanie końcowej mieszaniny hydrożeli funkcjonalizowanych IL-4-Y i SDF-1-X;
- przygotowanie niefunkcjonalizowanego hydrożelu RADA16-I;
- kontrolę jakości, walidację fizykochemiczną i biologiczną oraz sukcesywną dostawę gotowych produktów.

Zamówienie będzie realizowane sukcesywnie w czterech częściach, zgodnie z bieżącym zapotrzebowaniem Zamawiającego. Łączna objętość produktów dostarczonych w ramach wszystkich części zamówienia wyniesie:

- 20 mL mieszaniny hydrożeli funkcjonalizowanych IL-4-Y i SDF-1-X;
- 20 mL niefunkcjonalizowanego hydrożelu RADA16-I.

Objętość pojedynczego produktu dostarczonego w ramach zamówienia częściowego będzie wynosić co najmniej 2 mL. Każda dostarczona partia musi stanowić gotowy i zwalidowany produkt spełniający poniżej określone minimalne wymagania jakościowe, fizykochemiczne i biologiczne.

Wymagania techniczne dla poszczególnych hydrożeli:

1. Mieszanina peptydowych hydrożeli funkcjonalizowanych IL-4-Y i SDF-1-X

Skład produktu końcowego: Produkt końcowy stanowi mieszanina dwóch hydrożeli funkcjonalizowanych:

- hydrożelu zawierającego R1-SDF-1-X,
- hydrożelu zawierającego R4-IL-4-Y.

Każdy z peptydów hybrydowych musi zostać przygotowany i poddany żelowaniu oddzielnie, a następnie zmieszany z niemodyfikowanym RADA16-I w stosunku objętościowym 1:1. Tak przygotowane hydrożele RADA16-I/R1-SDF-1-X oraz RADA16-I/R4-IL-4-Y należy następnie mieszać ze sobą w stosunku objętościowym 1:1. Przy jednakowym wyjściowym stężeniu wszystkich preparatów odpowiada to końcowemu stosunkowi objętościowemu składników: RADA16-I : R1-SDF-1-X : R4-IL-4-Y = 2:1:1.

Peptyd RADA16-I: Peptyd stanowiący podstawę hydrożelu musi posiadać sekwencję: Ac-RADARADARADARADA-NH₂.

Peptyd funkcjonalizowany IL-4-Y — R4-IL-4-Y: Peptyd hybrydowy musi zawierać rdzeń samoorganizujący RADA16-I, trójklicynowy element dystansujący, sekwencję podatną na proteolizę przez metaloproteinyazy typu PAGL oraz mimetyk IL-4-Y. Pełna sekwencja peptydu powinna odpowiadać: Ac-RADARADARADARADA-GGG-PAGL-QLIRFLKRLDRNLWG-NH₂. Sekwencja QLIRFLKRLDRNLWG odpowiada fragmentowi IL-4 obejmującemu reszty Q78–W92. Sekwencja PAGL stanowi motyw podatny na proteolizę przez odpowiednie metaloproteinyazy, natomiast trójklicynowy dystans GGG zwiększa dostępność przestrzenną obszaru proteolitycznego.

Mimetyk IL-4-Y zastosowany w konstrukcie musi posiadać udokumentowaną zdolność oddziaływania z receptorem IL-4R α . Dla peptydu IL-4-Y eksperymentalnie określona metodą mikroskalowej termoforezy wartość stałej dysocjacji wynosi około KD = 349 μ M. Za akceptowalną należy uznać udokumentowaną wartość odpowiadającą zakresowi około 300–400 μ M, określoną metodą MST lub równoważną metodą biofizyczną.

Wymaganie dotyczące aktywności biologicznej może zostać potwierdzone wynikami badań własnych Wykonawcy, recenzowanymi publikacjami naukowymi, dokumentacją patentową lub inną równoważną dokumentacją eksperymentalną.

Nie wymaga się oznaczania KD dla każdej partii produktu, o ile tożsamość i czystość peptydu danej partii zostały potwierdzone zgodnie z wymaganiami kontroli jakości.

Peptyd funkcjonalizowany SDF-1-X — R1-SDF-1-X: Peptyd hybrydowy musi zawierać rdzeń samoorganizujący RADA16-I, sekwencję VLGL podatną na proteolizę przez metaloproteinyazy oraz mimetyk SDF-1-X odpowiadający N-końcowemu fragmentowi SDF-1/CXCL12. Pełna sekwencja peptydu powinna odpowiadać: Ac-RADARADARADARADA-VLGL-KPVLSYSYR-NH₂. Sekwencja KPVLSYSYR odpowiada resztom K1–R8 białka SDF-1/CXCL12. Konstrukcja VLGL-

KPVLSYR umożliwia enzymatyczne uwalnianie peptydu zawierającego aktywny fragment SDF-1-X.

Wykonawca musi posiadać dokumentację potwierdzającą aktywność biologiczną SDF-1-X lub hydrożelu R1-SDF-1-X w modelu komórkowym związanym z regeneracją mięśni szkieletowych. Za właściwe potwierdzenie uznaje się w szczególności wykazanie zwiększonej migracji komórek miogenicznych w porównaniu z niemodyfikowanym hydrożelem RADA16-I, względnie bezpośrednie wykazanie oddziaływania lub aktywacji osi SDF-1/CXCR4 przy zastosowaniu odpowiedniej metody receptorowej.

2. Niefunkcjonalizowany hydrożel RADA16-I

Skład produktu końcowego: Produktem kontrolnym musi być hydrożel przygotowany wyłącznie z peptydu RADA16-I o sekwencji: Ac-RADARADARADARADA-NH₂, bez dołączonych sekwencji biologicznie aktywnych.

Wymagania ogólne

- **Podwykonawstwo:** Zamawiający dopuszcza pozyskanie peptydów od podmiotów trzecich oraz zlecenie podwykonawcom części procesu, w tym syntezy, oczyszczania, analiz lub przygotowania formulacji. Niezależnie od udziału podwykonawców, Wykonawca ponosi pełną odpowiedzialność za jakość, tożsamość, czystość, jakość mikrobiologiczną, parametry fizykochemiczne i biologiczne produktu końcowego, zgodność ze specyfikacją oraz terminową realizację zamówienia.
- **Infrastruktura techniczna:** Wykonawca musi dysponować, bezpośrednio lub poprzez podwykonawców, infrastrukturą techniczną i analityczną umożliwiającą przeprowadzenie syntezy i oczyszczania peptydów, przygotowanie i mieszanie hydrożeli oraz wykonanie wymaganych badań kontroli jakości i walidacji.
- **Tożsamość i czystość peptydów:** Każdy peptyd stosowany do przygotowania produktu końcowego musi charakteryzować się czystością nie mniejszą niż 95%, określoną metodą RP-HPLC lub UHPLC. Tożsamość każdego peptydu musi zostać potwierdzona metodą spektrometrii mas. Wynik analizy MS musi potwierdzać zgodność masy cząsteczkowej produktu z wartością teoretyczną.
- **Warunki aseptyczne i jakość mikrobiologiczna:** Nie jest konieczne prowadzenie chemicznej syntezy SPPS w warunkach sterylnych. Natomiast wszystkie etapy przygotowania końcowej formulacji przeznaczonej do badań biologicznych — rozpuszczanie oczyszczonych peptydów, żelowanie, mieszanie, porcjowanie i pakowanie — muszą być prowadzone w warunkach aseptycznych, z zastosowaniem sterylnych odczynników i wyposażenia odpowiedniego do przygotowywania materiałów stosowanych w hodowlach komórkowych.

- **Formulacja, samoorganizacja i stabilność:** Gotowe hydrożele muszą wykazywać zdolność do samoorganizacji i tworzenia struktury bogatej w β -kartki (β -sheet) oraz stabilnej nanowłóknistej sieci hydrożelowej. Produkt nie może wykazywać makroskopowego wytrącania, gwałtownej dysocjacji ani utraty właściwości żelowych podczas przygotowania, jak i ekspozycji na roztwór soli fizjologicznej lub standardowe medium hodowlane.
- **Biokompatybilność i brak cytotoksyczności:** Wykonawca musi wykazać, że zastosowana technologia pozwala na otrzymanie hydrożeli biokompatybilnych, niewykazujących istotnego działania cytotoksycznego wobec ludzkich komórek miogenicznych. Biokompatybilność może zostać potwierdzona przy użyciu zwalidowanych metod oceny żywotności, cytotoksyczności lub apoptozy, takich jak LDH, XTT/MTT, Annexin V lub metod równoważnych. Ponadto Wykonawca musi posiadać dokumentację potwierdzającą biologiczną aktywność zastosowanych mimetyków IL-4-Y i SDF-1-X oraz brak szkodliwego wpływu funkcjonalizowanych hydrożeli na komórki istotne dla regeneracji mięśni szkieletowych. Za właściwe dowody uznaje się recenzowane publikacje naukowe, zgłoszenia lub patenty, raporty z badań własnych albo inną równoważną dokumentację eksperymentalną opartą na zweryfikowanej metodyce.

Walidacja fizykochemiczna

Wykonawca jest zobowiązany do przeprowadzenia walidacji produktu końcowego potwierdzającej:

- tożsamość i czystość składników peptydowych;
- obecność struktury wtórnej charakterystycznej dla hydrożeli RADA16-I;
- obecność nanowłóknistej/mikroporowatej struktury hydrożelu;
- stabilność fizyczną formulacji.

Walidacja powinna obejmować komplementarne metody analityczne, w szczególności:

- CD i/lub FTIR/ATR-FTIR — do oceny struktury wtórnej;
- TEM, AFM lub cryo-SEM — do oceny morfologii sieci;
- analizę stabilności;
- w przypadku pełnej charakterystyki właściwości żelowych — reologię oscylacyjną, umożliwiającą potwierdzenie zachowania charakterystycznego dla hydrożelu, w tym przewagi modułu zachowawczego G' nad modułem stratności G'' w odpowiednim zakresie liniowej lepkości.

Do każdej partii powinien zostać dostarczony Certyfikat Analizy (CoA) zawierający co najmniej:

- oznaczenie produktu i numer partii;
- sekwencję peptydu;
- wynik oznaczenia czystości metodą HPLC/UHPLC;
- wynik analizy MS.

Warunki transportu i zabezpieczenia przedmiotu zamówienia:

- Dostawa przedmiotu zamówienia odbywa się na koszt Wykonawcy do siedziby Zamawiającego.
- Wykonawca zobowiązany jest do zapewnienia warunków transportu i opakowania ochronnego gwarantujących zachowanie pełnych właściwości fizykochemicznych, biologicznych oraz strukturalnych hydrożeli.
- Z uwagi na właściwości materiału opakowanie oraz sposób transportu muszą bezwzględnie zapobiegać spienieniu (napowietrzeniu) preparatu oraz zmianom jego homogeniczności. Zamawiający wymaga, aby Wykonawca zastosował rozwiązania technologiczne/opakowaniowe całkowicie eliminujące ryzyko uszkodzenia próbek w trakcie przewozu.
- Dopuszcza się realizację dostawy transportem dedykowanym Wykonawcy, za pośrednictwem wyspecjalizowanej firmy kurierskiej zapewniającej warunki chroniące próbki przed wstrząsami i spienieniem lub w formie odbioru osobistego przez Zamawiającego – po uprzednim obustronnym uzgodnieniu terminu i sposobu przekazania.
- W przypadku stwierdzenia przy odbiorze braku homogeniczności materiału, w tym spienienia hydrożeli uniemożliwiającego lub utrudniającego ich prawidłowe wykorzystanie do prowadzonych badań, Zamawiający ma prawo odmówić przyjęcia dostawy, a Wykonawca zobowiązany jest do dostarczenia nowej, pełnowartościowej partii na własny koszt.

Podpisany elektronicznie przez
Karolina Anna Archacka
09.10.2026
13:46:31 +02'00'