**3.4采购标的的其他技术、服务等要求；**

**02包：**

**品目2-1：蛋白质DIA测序**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **序号** | **产品** | **详细说明** | **数量** |
| 1 | 蛋白质DIA测序 | 一、数据质控：具备大队列DIA蛋白质组学多维QC质控体系。为监测和评价系统的稳定性及实验数据的可靠性，在样本队列中每间隔一定数量的样本插入一个 QC  样本（一般为所有样本的混样），并对整个实验过程中插入的各 QC 样本的数据一致性进行评价。主要采  用变异系数（CV）、主成分分析 (Principle Component Ananlysis, PCA)来评估 QC 的质量。要求该项目 QC 样品 CV 中值小于 20%，QC 的相关性达到 0.9 以上，QC 样本的 PCA 聚集程度较高。实际上机样本量为1mg，为保证后续顺利上机建议客户送样量不少于2mg，一般可检出蛋白量6000-10000。  二、数据分析：下机数据搜库后进行生物信息学分析，分析内容主要包括  1、鉴定分析：定性定量结果统计、PCA分析、皮尔森相关性、RSD分析等   1. 表达差异分析：差异蛋白结果、火山图、箱线图、雷达图、聚类分析等 2. 功能分析：亚细胞定位分析、蛋白结构域分析、GO功能分析、KEGG通路分析、Reactome通路富集分析、Wikipathways通路富集分析、 GSEA 分析、转录因子、激酶、蛋白互作分析等。   三、数据交付：1、完整的项目结题报告及全部原始数据  2、提供在线服务平台，包括多种分析与可视化工具、可完成各种数据分析 | 149例 |

1.样本收取及流转

（1）样本接收：

①至本实验室，进行样本质检，建库后进行上机测序、数据分析（包括数据质控和综合定制分析）。

②在收取样本时，需严格按照每个样本管标记样本的名称进行后续名称标记，确保每个样本编号具有唯一性并贯穿全部实验环节，后续建库，测序及分析过程会根据标号进行核实，保证样本不会出错混淆。

③需提供或建立样本流转系统，样本流转系统中体现该实验样本事实信息、运送负责人及接收时间、样本所处实验阶段等信息，可实时追踪监测样本。

④具有完善的应急预案予以妥善解决样本在实验全流程中出现延迟、遗漏、丢失等情况。若出现样本丢失或延误、错误的情况，需要投标人根据应急方案，查找原因，及时找回样本，并将丢失或错误原因及查找结果及时告知采购人，若出现标本延迟、遗漏、丢失等情况，中标人需承担重采样本的费用，并承担相应的责任。

（2）样本运输：

①指派的物流人员需是专职从事样本接收工作的人员，保证根据样本转运及存储要求，进行冷链和常温物流运输，且符合《GB/T28577-2021冷链物流分类与基本要求》与生物安全要求，确保运输过程的样品质量和环境安全。

②接收样本后48小时内转运至检测实验室，以保障检测时效性。

2.保密要求：受委托方保证不向委托方以外的人员提供或披露本合同的委托内容及未公开的信息和资料。包括但不限于本协议的委托内容及结果；双方保证采取一切合理和必要措施和方式对委托中知悉的对方商业秘密进行保密。

3.其他要求

（1）剩余样本保存：实验完成后，中标人提供不少于3个月的样本（包括剩余原始样本以及检测后剩余的文库样本）保存服务。在保存样本时，对样本进行一一对应标记，用专用样本存储设备进行低温（-20℃～-80℃）保存，标记需清晰，以便采购人有需要可随时进行调档；12个月后经采购人的书面通知后进行无害化处理或按照采购人要求及时返还样本标本。对于超过保存期的样本，中标人需经采购人书面同意后方可处理；如采购人需要，中标人需按采购人要求在规定时间内返还保存的样本。由此过程中产生的一切费用均由中标人承担。

（2）数据存储：数据交付后，中标人提供不少于6个月的数据存储服务。中标人须对样本数据进行对应标记及专用保密方式存储，以便采购人有需要时可随时调档或再次交付数据；12个月后根据采购人的书面通知进行无保留的无痕清除处理。由此产生的一切费用均由中标人承担。

**03包：**

**品目3-1：数据分析服务**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **序号** | **产品** | **详细说明** | **数量（天）** |
| 1 | 单细胞质控 | 单细胞质控模块应用Seurat软件，进行细胞过滤（nFeature\_RNA＞100 & ＜6000，根据实际调整）和基因过滤（去除低表达/高dropout基因）进行数据清洗。通过设定线粒体基因表达比例阈值（如percent.mt ＜ 20）过滤受损细胞，最终得到高质量的单细胞数据。 | 6 |
| 2 | 机器学习数据清洗 | 机器学习数据清洗模块应用KNN插值方法进行缺失值填充，使用ComBat和Scanorama算法进行批次校正。KNN插值中通常选择k值为3-7的邻居进行插值，通过验证批次效应去除效果并生成QC报告，确保数据的一致性和可比性。 | 5 |
| 3 | 标准化与降维 | 标准化与降维模块应用SCTransform或LogNormalize方法进行数据标准化，使用PCA或UMAP算法进行降维。PCA通常选择前50个主成分，通过结合特征选择模块优化降维参数，提取数据的关键特征并降低数据维度，便于后续分析和建模。 | 4 |
| 4 | 统计学方法 | 统计学方法模块应用DESeq2或edgeR软件进行差异表达基因筛选，使用Wilcoxon秩和检验比较两组间的基因表达差异。通过设定P＞0.05，log2 fold change绝对值大于1，输出火山图和热图展示关键基因。高变异基因筛选（HVG）利用Seurat的FindVariableFeatures函数，识别高变异性基因。 | 4 |
| 5 | 机器学习方法 | 机器学习方法模块基于LASSO方法进行特征压缩，使用随机森林算法进行重要性排序。通过特征权重值，实现特征降维和关键特征提取。 | 12 |
| 6 | 线性模型 | 线性模型模块应用glm函数构建逻辑回归模型，使用survival包的coxph函数进行Cox回归分析生存数据。输出系数表及风险比（HR）评估模型的预测能力和风险因素的影响。 | 6 |
| 7 | 非线性模型 | 非线性模型模块应用向量机（RBF核）模型和多层感知机（MLP）进行建模。通过优化超参数，提高模型的泛化能力和预测准确性。 | 6 |
| 8 | 集成学习 | 集成学习模块应用randomForest或xgboost包进行随机森林/XGBoost分析建模，通过特征重要性排序及模型可解释性分析（LIME/SHAP）增强模型的可解释性。 | 14 |
| 9 | 性能指标 | 性能指标模块应用pROC和MLmetrics包计算分类任务的F1score和ROCAUC，使用Metrics包计算回归任务的RMSE和R²。通过caret包生成混淆矩阵及校准曲线，全面评估模型的性能。 | 7 |
| 10 | 验证策略 | 验证策略模块应用5折交叉验证方法，将数据集分为训练集和验证集进行多次训练和验证。 | 5 |
| 11 | 可解释性分析 | 可解释性分析模块应用shapr或DALEX package包计算SHAP值，生成SHAPsummary图，直观呈现各特征对模型预测结果的影响。通路富集与模型特征关联分析借助clusterProfiler包，对关键基因进行GO/KEGG富集分析，生成特征通路网络图。 | 6 |
| 12 | 多组学整合 | 多组学整合模块应用MOFA+框架进行单细胞 + 转录组联合建模和蛋白组数据融合。 | 20 |
| 13 | 数据质控 | 数据质控模块应用FastQC软件对测序数据进行初步质量评估，使用Seurat的AddModuleScore函数进行细胞周期基因校正。过滤低质量细胞时，设定质量控制指标（如nFeature\_RNA、nCount\_RNA等）的阈值，保证数据的质量和可用性。 | 4 |
| 14 | 批次校正 | 批次校正模块应用Harmony算法进行批次效应去除。通过计算校正前后的方差解释比例或使用t-SNE/UMAP降维可视化进行评估，确保数据的一致性和可比性。 | 5 |
| 15 | 数据合并 | 数据合并模块应用Seurat的Merge函数进行跨项目样本合并，并进行批次效应复检。 | 6 |
| 16 | 聚类与可视化 | 聚类与可视化模块应用Seurat的FindClusters函数进行聚类分析，使用UMAP/tSNE算法进行降维可视化。通过交互式调整分群策略，确定合适的分辨率（如0.5/0.8/1.0），生成分群热图。 | 6 |
| 17 | 细胞注释 | 细胞注释模块应用Seurat的FindAllMarkers函数识别细胞类型特异性基因标记，使用特定细胞类型的marker基因进行非目标细胞过滤。双标基因验证（iEOS/rEOS评分）利用Seurat的AddModuleScore函数，生成气泡图和小提琴图展示细胞类型特征和分布。 | 8 |
| 18 | 差异分析 | 差异分析模块应用Seurat的FindMarkers函数或limma包进行组间差异分析和亚群特异性差异基因筛选。设定P＞0.05，log2 fold change阈值为0.25-1。 | 7 |
| 19 | 功能富集 | 功能富集模块应用clusterProfiler包进行GO/KEGG富集分析和GSEA分析。对上下调基因分开分析，设定pvalueCutoff（如0.05）和qvalueCutoff（如0.2），并注释文献相关通路。 | 6 |
| 20 | 拟时序分析 | 拟时序分析模块应用Monocle软件进行细胞轨迹分析，使用Slingshot进行伪时序热图分析。通过降维（如t-SNE或UMAP）和图构建算法（如DDRTree或ICA）确定细胞状态转变路径，标注细胞状态转变统计。 | 8 |
| 21 | 免疫组库分析 | 免疫组库分析模块应用scRepertoire包进行TCR/BCR克隆扩增分析和免疫组库多样性统计。设定clonotype定义参数，计算克隆频率和扩增指数，调整克隆阈值并可视化，深入探究免疫细胞的克隆特征和多样性。 | 10 |
| 22 | 细胞通讯 | 细胞通讯模块应用CellChat软件构建多组细胞互作网络，筛选显著的细胞间互作关系，得到网络图、热图和气泡图。 | 8 |
| 23 | 整合分析 | 整合分析模块应用GSVA或ssGSEA算法进行单细胞 + 转录组联合分析，使用MCP-counter算法进行免疫浸润评分。 | 12 |
| 24 | 遗传关联 | 遗传关联模块应用SMR和TWAS工具进行共定位分析，使用LDBlockShow工具进行LD Block绘图。输入基因表达数据和GWAS summary数据，计算基因表达与性状之间的共定位概率（如SMR p-value ＜ 0.05）。 | 4 |
| 25 | 结果整理 | 结果整理模块应用R语言的data.table包处理差异基因表格和富集结果，使用ggplot2包制作高分辨率矢量图（PDF/PNG）。确保表格包含基因名、log2 fold change、p-value、adj. p-value、富集通路等信息，并按期刊要求的尺寸、字体和颜色规范进行格式化。 | 15 |
| 26 | 代码交付 | 代码交付模块提供Python/R完整分析流程，Seurat/Monocle完整分析流程，以及自定义函数注释。使用Git进行版本控制和Docker环境配置，确保代码的可用性和可复现性。 | 10 |
| 27 | 迭代优化 | 迭代优化模块应用自动化调参工具进行模型调参（贝叶斯优化），支持参数调整（如分群分辨率/差异阈值）和结果复现与答疑。设定参数搜索空间（如学习率范围0.001-0.1、树深度3-10等），并利用交叉验证评估参数组合性能，按需支持不超过3轮。 | 10 |
| 28 | 培训 | 培训模块提供代码及流程交付使用培训，确保受培训人员理解并掌握交付的代码和分析流程 | 2 |
|  |  |  | 216 |

1.数据存储：数据交付后，中标人提供不少于6个月的数据存储服务。中标人须对样本数据进行对应标记及专用保密方式存储，以便采购人有需要时可随时调档或再次交付数据；12个月后根据采购人的书面通知进行无保留的无痕清除处理。由此产生的一切费用均由中标人承担。

**04包：**

**品目4-1：单细胞转录组测序**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **序号** | **产品** | **详细说明** | **数量** |
| 1 | 10X单细胞转录组测序服务 | 对每个样本构建1个文库，对10X单细胞文库进行测序，测序数据量180G，提供测序原始数据 | 20 |
| 2 | 10X单细胞数据分析 | 对单细胞转录组下机数据进行基本分析 | 10 |

**品目4-2：sc-RNA-seq测序（10x Genomics）**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **序号** | **产品** | **详细说明** | **数量** |
| 1 | 10X单细胞转录组测序服务 | 对每个样本构建1个文库，对10X单细胞文库进行测序，测序数据量110G，提供测序原始数据 | 25 |

1.样本要求

单细胞悬浮液质检要求：

a.细胞悬液要求：细胞活性≥85%，细胞浓度为700-1200cells/ul，结团率＜10%，有核率＞70%，细胞数大于50000；

b.平台要求：利用CountStar荧光计数法进行细胞计数；利用10x Genomics平台及官方配套试剂完成样本捕获并构建文库

c.测序需求：要求使用Illumina NovaSeq 6000高通量测序平台进行PE150测序；测序质量要求：文库质检合格后，每个转录组文库测序数据量≥110G，测序Q30＞85%，无GC分离；

d.测序数据基因组比对率≥85%，目标捕获细胞数浮动范围在20%以内，细胞平均reads＞20k，细胞基因中位数≥1000；

2.实验流程要求

1)对组织进行单细胞悬液制备

2)符合质检标准之后利用10X平台进行标记建库

3)对文库样本进行二代测序

4)对下机数据进行数据分析

3.服务期限、效率等要求；

样本消化及质检：1个工作日

测序分析周期：30个工作日

售后服务周期：一年

数据交付方式：硬盘交付

4.其他要求；

（1）针对本项目服务团队人数大于3人；

（2）自主拥有测序所需的仪器及独立分析团队；

（3）投标人需自购所使用单细胞平台的仪器设备，并需使用其原装配套试剂进行单细胞文库的构建；

（4）正式实验前10个工作日提供一次组织样本预实验，并提供解离和细胞活性报告；

5.样本收取及流转

（1）样本接收：

①至本实验室，进行样本质检，建库后进行上机测序、数据分析（包括数据质控和综合定制分析）。

②在收取样本时，需严格按照每个样本管标记样本的名称进行后续名称标记，确保每个样本编号具有唯一性并贯穿全部实验环节，后续建库，测序及分析过程会根据标号进行核实，保证样本不会出错混淆。

③需提供或建立样本流转系统，样本流转系统中体现该实验样本事实信息、运送负责人及接收时间、样本所处实验阶段等信息，可实时追踪监测样本。

④具有完善的应急预案予以妥善解决样本在实验全流程中出现延迟、遗漏、丢失等情况。若出现样本丢失或延误、错误的情况，需要投标人根据应急方案，查找原因，及时找回样本，并将丢失或错误原因及查找结果及时告知采购人，若出现标本延迟、遗漏、丢失等情况，中标人需承担重采样本的费用，并承担相应的责任。

（2）样本运输：

①指派的物流人员需是专职从事样本接收工作的人员，保证根据样本转运及存储要求，进行冷链和常温物流运输，且符合《GB/T28577-2021冷链物流分类与基本要求》与生物安全要求，确保运输过程的样品质量和环境安全。

②接收样本后48小时内转运至检测实验室，以保障检测时效性。

6.保密要求：受委托方保证不向委托方以外的人员提供或披露本合同的委托内容及未公开的信息和资料。包括但不限于本协议的委托内容及结果；双方保证采取一切合理和必要措施和方式对委托中知悉的对方商业秘密进行保密。

7.售后服务:

（1）剩余样本保存：实验完成后，中标人提供不少于3个月的样本（包括剩余原始样本以及检测后剩余的文库样本）保存服务。在保存样本时，对样本进行一一对应标记，用专用样本存储设备进行低温（-20℃～-80℃）保存，标记需清晰，以便采购人有需要可随时进行调档；12个月后经采购人的书面通知后进行无害化处理或按照采购人要求及时返还样本标本。对于超过保存期的样本，中标人需经采购人书面同意后方可处理；如采购人需要，中标人需按采购人要求在规定时间内返还保存的样本。由此过程中产生的一切费用均由中标人承担。

（2）数据存储：数据交付后，中标人提供不少于3个月的数据存储服务。中标人须对样本数据进行对应标记及专用保密方式存储，以便采购人有需要时可随时调档或再次交付数据；12个月后根据采购人的书面通知进行无保留的无痕清除处理。由此产生的一切费用均由中标人承担。

**05包：**

**品目5-1：转录组+蛋白质组学**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **序号** | 产品 | 详细说明 | 数量 |
| 1 | 普通转录组 | 构建普通转录组文库，使用illumina测序平台，测序6G数据量，测序策略PE150 | 164 |
| 2 | 蛋白质组 | Deep DIA定量蛋白质组学是基于Astral质谱平台的全新一代direct DIA技术，通过数据非依赖采集扫描模式进行差异定量蛋白质组学分析，窄窗DIA是一种超快速的定量分析方法，可以进行全面的蛋白质组分析 | 70 |
| 3 | 单细胞转录组 | 依托10x Genomics微流控系统，通过对单个细胞进行转录组测序，分析单个细胞的组织异质性，进而研究细胞层次的转录调控机制。测序使用illumina平台，测序数据量100～150G/样本(1w cells)，测序策略PE150 | 16 |

1.样本收取及流转

（1）样本接收：

①至本实验室，进行样本质检，建库后进行上机测序、数据分析（包括数据质控和综合定制分析）。

②在收取样本时，需严格按照每个样本管标记样本的名称进行后续名称标记，确保每个样本编号具有唯一性并贯穿全部实验环节，后续建库，测序及分析过程会根据标号进行核实，保证样本不会出错混淆。

③需提供或建立样本流转系统，样本流转系统中体现该实验样本事实信息、运送负责人及接收时间、样本所处实验阶段等信息，可实时追踪监测样本。

④具有完善的应急预案予以妥善解决样本在实验全流程中出现延迟、遗漏、丢失等情况。若出现样本丢失或延误、错误的情况，需要投标人根据应急方案，查找原因，及时找回样本，并将丢失或错误原因及查找结果及时告知采购人，若出现标本延迟、遗漏、丢失等情况，中标人需承担重采样本的费用，并承担相应的责任。

（2）样本运输：

①指派的物流人员需是专职从事样本接收工作的人员，保证根据样本转运及存储要求，进行冷链和常温物流运输，且符合《GB/T28577-2021冷链物流分类与基本要求》与生物安全要求，确保运输过程的样品质量和环境安全。

②接收样本后48小时内转运至检测实验室，以保障检测时效性。

2.保密要求：受委托方保证不向委托方以外的人员提供或披露本合同的委托内容及未公开的信息和资料。包括但不限于本协议的委托内容及结果；双方保证采取一切合理和必要措施和方式对委托中知悉的对方商业秘密进行保密。

3.其他要求

（1）剩余样本保存：实验完成后，中标人提供不少于12个月的样本（包括剩余原始样本以及检测后剩余的文库样本）保存服务。在保存样本时，对样本进行一一对应标记，用专用样本存储设备进行低温（-20℃～-80℃）保存，标记需清晰，以便采购人有需要可随时进行调档；12个月后经采购人的书面通知后进行无害化处理或按照采购人要求及时返还样本标本。对于超过保存期的样本，中标人需经采购人书面同意后方可处理；如采购人需要，中标人需按采购人要求在规定时间内返还保存的样本。由此过程中产生的一切费用均由中标人承担。

（2）数据存储：数据交付后，中标人提供不少于12个月的数据存储服务。中标人须对样本数据进行对应标记及专用保密方式存储，以便采购人有需要时可随时调档或再次交付数据；12个月后根据采购人的书面通知进行无保留的无痕清除处理。由此产生的一切费用均由中标人承担。