

委托协议编号

BZ-AS-20262340

技术服务（测试化验加工）委托协议

委托任务名称 860 例人血浆样本载脂蛋白检测

甲方 北京市心肺血管疾病研究所

单位通讯地址 北京市朝阳区安贞路 2 号

乙方 上海中科新生命生物科技有限公司

单位负责人 蒋春丽

联系人 蒋春丽

联系电话 18301047312

单位通讯地址 上海市闵行区园美路 58 号 1 号楼 15 楼

签订日期：____年____月____日

签订地点：北京

有效期限： 2026 年 6 月 12 日 至 2028 年 6 月 12 日

填写说明

- 一、 本协议适用于我院科研人员在项目研究过程中支付给外单位的检验、测试、化验及加工等费用时需要签署的协议。
- 二、 合同封面的委托任务名称指本合同的测试加工等具体内容，应用简明规范的专业术语明确概括所要完成的服务内容。
- 三、 本合同的甲方和乙方名称，须按单位公章的详细名称填写，若涉及外文名称，首次出现时应写明全称及简称。
- 四、 本协议书未尽事项，可由当事人附页另行约定，并可作为本协议的组成部分。如协议研究内容涉及国家秘密或重大商业秘密的，双方应另行签署保密义务。
- 五、 使用本协议书时约定无须填写的条款，应在该条款处注明“无”等字样。
- 六、 协议书要求 A4 纸打印，一式 4 份，左侧装订，正文内容所用字型应不小于 5 号字，协议正本中所涉及与本协议约定事项有关的技术资料及其指定附件备齐后应合装成册，其规格大小应与协议书一致。
- 七、 乙方需提供测试化验加工的原始数据，甲方务必保留原始数据 10 年以上以备审计抽查。
- 八、 协议需法人或委托代理人签署意见后加盖医院公章方可生效。

依据《中华人民共和国民法典》及本协议书相关的科研项目、经费管理办法规定，为完成甲方承担的研究任务，经双方协商一致，各方在真实、充分地表达各自意愿的基础上，就本协议书中所描述的委托内容、经费支付、保密内容、知识产权等问题达成如下协议，签订本合同并由签约双方共同恪守。

第一条 委托工作的主要内容、加工方式和要求

1、测试加工内容

甲方委托乙方就 860 例人血浆样本进行载脂蛋白检测

1.1 本项目实验分析流程包括以下步骤：

1.1.1 人血浆 DIA 相对定量检测：本项目分析流程主要采用 thermo top14 试剂盒的方法去除高丰度蛋白，再对血浆里中低丰度蛋白检测。DIA 质谱实验分析流程主要包括血浆样本通过 thermo top14 试剂盒去除高丰度蛋白，酶解后得到肽段进行液相色谱-串联质谱（LC-MS/MS）DIA 数据采集、单个样本 8min 检测时长、数据库检索等步骤对血浆样本分析。

1.1.2 人血浆 DIA 相对定量检测：采用 Vanquish Neo UHPLC 纳升液相系统+Orbitrap Astral 8min(最新一代高通量质谱，实现血液蛋白质组超深度鉴定)的全息扫描蛋白质组学科研服务。

1.1.3 组学检测：本项目分析流程主要包括 DDA 建库与 DIA 分析两个阶段。质谱实验分析流程主要包括蛋白质提取、肽段酶解、色谱分级、液相色谱-串联质谱（LC-MS/MS）DDA 数据采集、数据库检索等步骤；正式实验阶段主要包括 DIA 分析，质控分析，定性定量结果分析及生物信息学分析。下机数据采用 Spectronaut 进行定性定量分析，提供蛋白定性定量列表，肽段定性定量列表，GO，KEGG，PPI 等生物信息学分析结果。

2、测试加工方式和要求

2.1 技术服务的方式：甲方提供样本，乙方完成全部检测工作。

2.2 技术服务的要求：客观检测，符合数据的质量要求。

第二条 考核指标及验收方式

双方确定以下列标准和方式对乙方的技术服务工作成果进行验收：

1. 乙方完成技术服务工作的形式：按照合同要求客观检测。

2. 技术服务工作成果的验收标准：达到合同中技术服务质量要求。
3. 技术服务工作成果的验收方法：成果报告以纸质版和电子版两种形式发送给甲方。经甲方签字确认后，验收报告生效。
4. 验收地点：北京市心肺血管疾病研究所

第三条 测试化验加工细目：

序号	测试化验加工的内容	测试结果的呈现方式	计量单位	单价 (万元/单位)	数量	金额(万元)
1	860 例人血浆样本 DIA 蛋白质组学相对定量检测	电子版和纸质版的成果报告	例	0.0575	860	49.45
	合计					49.45

第四条 经费支付方式:

1. 委托应支付费用共计 49.45 万元, 由甲方提供。

2. 支付方式一次: (一次或分期) 支付乙方 (按以下第 ③种方式):

①一次总付: _____ 万元。乙方在甲方付款前, 即需提供测试服务。

②分期支付:

第一次支付_____万元, 甲方在合同签订后____日内支付。

第二次支付_____万元, 甲方在乙方全部测试技术服务完成并通过验收后____日内支付。

③其它方式:

合同签订完成 30 日内, 乙方向甲方提供 2 份履约保函, 其中: 合同总价 5% (贰万肆仟柒佰贰拾伍元整人民币) 的履约保函, 保函期限为一年, 全部服务完成经甲方验收合格后退还; 另外合同总价 5% (贰万肆仟柒佰贰拾伍元整人民币) 的质量保函, 保函期限为两年, 待验收签字确认合格之日起免费售后服务执行 12 个月后 (若售后服务无问题) 退还。

甲方收到乙方开户银行履约保函后甲方向财政办理合同支付手续。甲方支付费用 7 日前, 乙方应将对应金额的法定发票提供甲方审核, 待审核通过后甲方按照合同约定向乙方支付费用, 如发票审核不合格, 或者乙方未按规定提供保函的, 甲方有权延期支付费用。

第五条 知识产权归属

1. 双方在申请本课题之前各自所获得的知识产权及相应权益均归各自所有, 不因共同申请本课题而改变。

2. 本协议所产生的所有成果的知识产权全部归属于甲方, 乙方不得利用测试结果单独申报任何形式的成果。

3. 在课题执行过程中各自向对方提供的相关信息, 不构成向对方授予任何关于知识产权的许可行为。

4. 本合作协议不在各方之间建立任何商业上的代理、合作关系。

第六条 保密条款

1. 乙方保证不向甲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。

2. 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。

第七条 承诺

1. 如委托的任务涉及人类遗传资源采集、收集、买卖、出口、出境等，乙方承诺遵照《人类遗传资源管理暂行办法》相关规定执行。
2. 如委托任务涉及动物实验，乙方承诺自觉遵守《实验动物管理条例》，严格选用符合要求的合格动物进行实验，保障动物福利。
3. 如委托任务的研究对象涉及人类受试者，乙方承诺在签署协议前已经将委托任务的实施方案呈交单位伦理委员会讨论，并获得了伦理委员会批准。甲方在完成委托任务的过程中，自觉遵守国内外相关的医学伦理准则，保障保护受试者的安全和权益。
4. 在乙方从事委托事项中发生的不可归责于甲方的人身、财产损害，由乙方自行承担。
5. 乙方保证与甲方无直接经济利益关系，并保证委托关系及事项真实有效。

第八条 不可抗力

1. 本协议所指不可抗力是指不能预见、不能避免并不能克服的客观情况，包括但不限于地震、火灾、水灾、战争、政府行为等。
2. 乙方因不可抗力不能履行协议的，应当在不可抗力事件发生之日起七日内将不可抗力事由以书面方式通知甲方，并应当在合理期限内提供证明。
3. 因不可抗力不能履行本协议的，根据不可抗力的影响，部分或全部免除责任。乙方延迟履行后发生不可抗力的，不能免除责任。

第九条 违约责任

1. 如无正当理由，甲方未能按期拨付工作经费，且经乙方催促仍不能拨付或不能给出合理解释的，乙方有权暂停履行受托任务。如甲方违约行为给乙方造成损失的，甲方还应承担相应赔偿责任。
2. 如乙方在完成委托工作时出现弄虚作假情况、不履行本协议或履行义务不符合要求的，甲方有权追回全部已拨经费。如乙方违约行为造成甲方损失的，甲方有权要求赔偿并追究乙方相关责任人员的法律责任。
3. 非因甲方违约或非因不可抗力，乙方不能完成受托任务或乙方逾期不能提交全部产出成果的，甲方有权解除本委托。委托解除后，乙方应返还甲方已经拨付的项目经费。如乙方的违约行为给甲方造成损失的，乙方还应承担相应的赔偿责任。

-
4. 乙方在合作期间及合作结束后，未经甲方书面同意，不得在任何形式的宣传材料、广告、媒体发布或公开声明中，使用甲方的名称（包括全称和简称等）、商标、标志、域名、产品或服务进行宣传或暗示其与甲方存在任何形式的合作关系，包括但不限于技术合作、业务往来、信用担保等。如违反本条内容，甲方有权要求乙方停止此侵权行为，并要求乙方赔偿甲方由此遭受的损失（包括直接损失及间接损失）。

第十条 协议的变更、终止及解除

1. 本协议的变更应由双方协商一致后达成变更协议，并作为本协议的附件。
2. 本协议可由双方协商一致予以终止。

第十一条 争议解决：如在履行本协议的过程中发生争执，双方当事人应友好协商解决，如协商不成，任何一方可向甲方签署地（甲方所在地）有管辖权的人民法院提起诉讼。


第十二条 其他约定事项（如无其他事项，请填“无”）

无

第十三条 本协议一式五份，甲方四份，乙方一份，具有同等法律效力。

与本协议约定事项有关的技术资料附件清单：见附件

第十四条 签字盖章页

委 托 方 (甲 方)	单位名称	北京市心肺血管疾病研究所 (盖章)		
	法定代表人	(签字)		
	经办人	(签字)	经办人 联系电话	
乙 方	单位名称	上海中科新生命生物科技有限公司 (盖章)		
	法定代表人		(签字)	
	经办人	蒋春丽 (签字)	经办人 联系电话	18301047312
	开户名称	上海中科新生命生物科技有限公司		
	开户银行	农行漕河泾开发区支行		
	银行账号	03390800040007818		

附件一 投标分项报价表

序号	服务内容	单价（元）	数量	合价（元）
1	载脂蛋白检测	575.00	860	494500.00
总价				494500.00

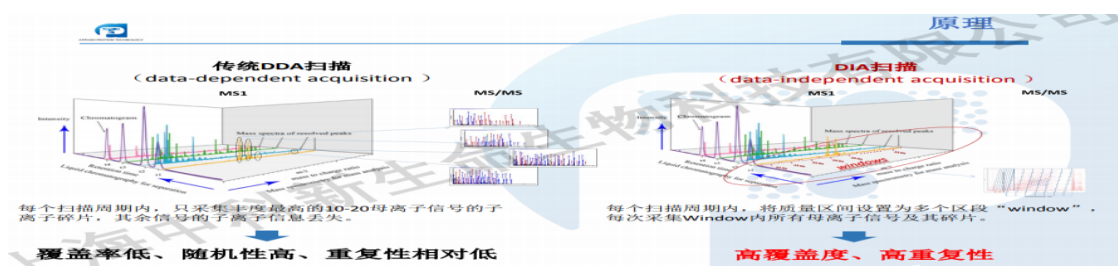
附件二 技术方案

1 DIA 蛋白质组学技术原理

1.1 DIA蛋白质组学技术原理

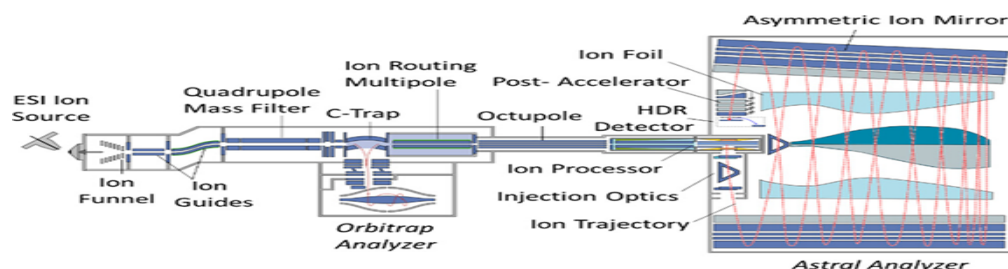
蛋白质组学是通过液质联用技术对蛋白质进行质谱定量分析的。该技术通过大规模分析肽段所产生的质谱数据，比较不同样品中相应肽段的定量信息，从而对肽段对应的蛋白质进行相对定量。DIA (data-independent acquisition) 技术是近年来发展起来的一种新的质谱技术。与传统的DDA (data-dependent acquisition) 质谱技术相比，DIA采用了不同的数据扫描模式：将质谱整个全扫描范围分为若干个窗口，然后对每个窗口中的所有离子进行检测、碎裂，从而无遗漏、无差异地获得样本中所有离子的信息。

与 DDA 技术相比，DIA 技术的优势包括：（1）采集所有的离子信息，实现更高的数据覆盖度；（2）减少采集的随机性，实现极高的检测重现性、稳定性；（3）采用碎片离子定量，定量精密度、准确性、线性范围大大提高。基于上述技术优势，DIA 技术尤其适用于大规模样本的高度覆盖、稳定和可追溯地分析。



1.2 新一代高通量质谱Orbitrap Astral仪原理

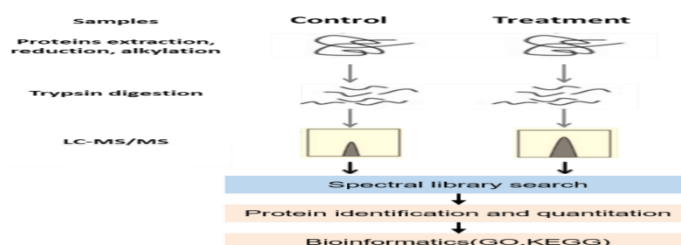
奥斯卡 DIA 蛋白质组学是基于赛默飞 Orbitrap™ Astral™ 高分辨质谱仪（简称 Astral 质谱仪）的蛋白质组学检测。Astral 质谱仪集合了四级杆质量分析器、Orbitrap 质量分析器和 Asymmetric Track Lossless 非对称轨道无损质量分析器，显著扩大了研究的范围和视角。前端（离子源至四极杆）最大限度提高仪器的灵敏度和耐用性。Orbitrap 质量分析器能够以高分辨率采集全景全扫描数据。Astral 质量分析器能够快速（高达 200 Hz）、灵敏地采集高动态范围 HRAM，与 Orbitrap 质量分析器的采集完全同步。因此，Astral 质谱仪在多种数据采集策略下都具有出色表现。Astral 质谱仪加持全扫描 DIA 技术，极大提升了质谱的鉴定能力。



2 DIA 全息扫描蛋白质组学整体方案

2.1 分析流程

本项目分析流程主要采用thermo top14试剂盒的方法去除高丰度蛋白，再对血浆里中低丰度蛋白检测。DIA质谱实验分析流程主要包括血浆样本通过thermotop14试剂盒去除高丰度蛋白，酶解后得到肽段进行液相色谱-串联质谱（LC-MS/MS）DIA数据采集、单个样本8min检测时长、数据库检索等步骤对血浆样本分析。检测流程示意图如下：



DIA定量蛋白质组学实验流程图

2.2 样品处理和预实验评估及分析方法

2.2.1 实验材料准备

2.2.1.1 样本采集的一般性原则

【一致性原则】：每例样本取样的部位、方式、预处理方法需要保持一致

【快速原则】：请务必提前设计准备好实验和材料，快速取样和分装。

【分装原则】：为避免样本反复冻融，建议样本采集后立即进行分装。

【联合分析原则】：尽可能保证样本同一批次，组数及生物学重复一致，并对不同组学样本进行分装。

【低温原则】：在采集过程中，请冰上操作，分离好的样本液氮速冻，取出保存于-80℃冰箱中。

2.2.1.2 样本的包装和运输指南

[1] 样品尽可能采用1.5ml或者2ml离心管（进口离心管）保存，运输时采用封口膜密封离心管（如管内为有机溶剂，务必采用螺旋口的冻存管并密封）。离心管上标记清楚样品名称后，按顺序整齐排列在冻存盒中。将冻存盒中样品存放的顺序信息对应填写《APT科研项目送样表》（电子版）。

[2] 不方便存储在离心管中的体积较大的组织样品，推荐采用锡箔纸等材料仔细包装，标记清楚样品名称，按照组别整理整齐，放置在密封袋中。

[3] 推荐采用双层泡沫盒密封包装，盒中加入足量的干冰。

2.2.1.3 样本数量：

860 例血浆样本。

2.2.2 样品处理和预实验评估

客户自行收集样品，低温下运输至技术中心。血浆样本通过thermo top14试剂盒去除高丰度蛋白。在本实验中，从每个样品中取出等量的部分，合并为一个样品作为质量控制样品。

2.2.3 样本消化

向每个样品中加入二硫苏糖醇（DTT）以还原二硫键，于 37° C 反应 1.5 小时。接着加入碘乙酰胺（IAA）来封闭被还原的半胱氨酸残基，在室温下避光反应 30 分钟。随后向样品中加入胰蛋白酶（胰蛋白酶与蛋白质的质量比为 1:50），并在 37° C 孵育 15 - 18 小时（过夜）。将消化后的肽段在 MCX 脱盐柱（omicsolution, OS - MCX - 1ML）上进行脱盐处理，通过真空离心浓缩，再用 20 μ L 含 0.1% (v/v) 甲酸的水溶液复溶。通过 280nm 处的紫外光谱密度来估算肽段含量。对于数据非依赖性采集（DIA）实验，向样品中加入 iRT（校准保留时间）校准肽段。

2.2.4 DIA分析方法

每个样品中的肽段通过与 Vanquish Neo 系统液相色谱（赛默飞世尔科技）相连的 Orbitrap Astral 质谱仪（赛默飞世尔科技），以数据非依赖性采集（DIA）模式进行分析。检测模式：正离子，母离子扫描范围为 380-980m/z，一级质谱分辨率为 240000 at 200 m/z，Normalized AGC Target 为 500% Maximum IT 为 5ms。MS2 采用 DIA 数据采集模式，设置 299 个扫描窗口，Isolation Window 为 2 Th，HCD Collision Energy 为 25%，Normalized AGC Target 为 500%，Maximum IT 为 3ms。

2.2.5 LC-MS/MS数据分析及交付

使用 DIA - NN 1.8.1 软件对 DIA 数据进行分析。主要软件参数设置如下：酶为胰蛋白酶，最大漏切数为1，固定修饰为半胱氨酸氨基甲基化（C），动态修饰为甲硫氨酸氧化（M）和蛋白质 N 端乙酰化。所有报告的数据均基于蛋白质鉴定的置信度达到 99%，此置信度由错误发现率（FDR） \leq 1% 确定。

定性分析：血浆符合定性要求的鉴定数量不低于3000，所检出的蛋白包含载脂蛋白，包括APOA, APOB, APOC, APOD, APOE, APOF, APOH, APOM相关各亚型，原则上载脂蛋白检测数量不低于15种。

实验下机数据搜库后进行生物信息学分析，分析内容主要包括鉴定分析、表达差异分析、功能分析等，除此之外还提供与其他组学的联合分析，例如蛋白组与临床脂蛋白亚组分参数（甲方检测的临床指标，由甲方提供）、代谢组联合分析；蛋白组与转录组联合分析等。基本分析见下图。



3. 生物信息学分析 Bioinformatics analysis

3.1 鉴定数量分析

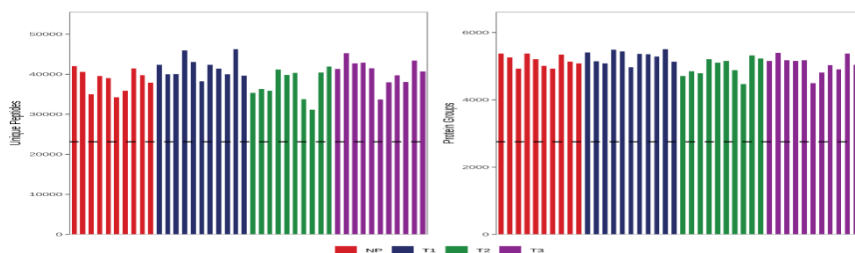
3.1.1 鉴定与定量结果统计

本项目每个样本鉴定的肽段数、鉴定的蛋白数结果统计，如下表与下图。(此报告模板中仅列举部分样本鉴定数目作为示例)

DIA 鉴定与定量结果统计表

Sample	Peptides	Proteins
.....
.....
.....

为整体观测不同组别样本鉴定到的蛋白及肽段数目，将每个样本的鉴定结果以柱状图展示如下

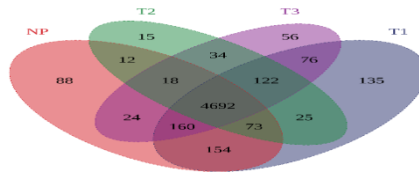


DIA 鉴定结果统计柱状图

说明：Peptides：鉴定到的肽段总数目； Protein groups：鉴定到的蛋白质总数。不同颜色代表不同组别。图中虚线代表样本的蛋白/肽段鉴定数量最高的一半。

3.1.2 组间样本鉴定重复性

为考察不同组别之间鉴定数量的重叠情况，以Venn图的形式将各组鉴定到的蛋白进行展示，结果如下图所示：

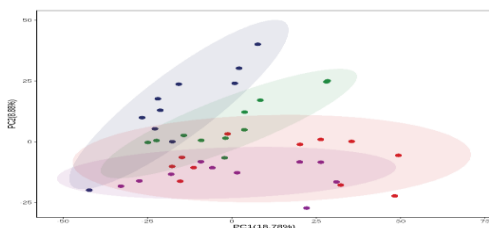


组间样本Venn图（超过五组出具花瓣图）

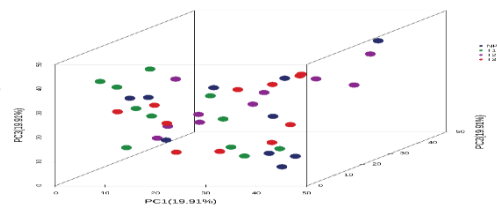
说明：每个颜色代表一个组别。

3.1.3 PCA 主成分分析

主成分分析（Principal Component Analysis, PCA）是一种非监督的数据分析方法。在主成分分析中，样本的蛋白表达轮廓越相似，则聚集程度越高。样本差异越大，则距离越远，因此能从总体上反映样本组间和组内的变异度。本项目对所有样本进行2D和3D PCA分析，结果如下图所示：



所有样本2D PCA分布图

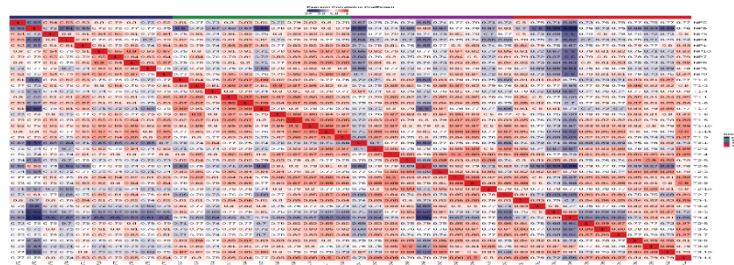


所有样本3D PCA分布图

说明：图中PC1代表主成分1，PC2代表主成分2，PC3代表主成分3，每个点代表一个样本，不同颜色分别代表不同的组别。

3.1.4 皮尔森相关性系数（Pearson's Correlation Coefficient, PCC）分析

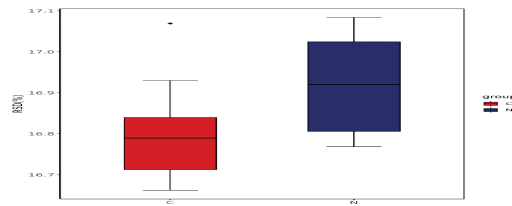
所有样本两两之间计算皮尔森相关性系数而绘制的热图。此系数是度量两组数据线性相关程度的值；当皮尔森系数越接近-1为负相关，越接近1为正相关，越接近0为不相关。结果如图所示。



样本组间鉴定到的蛋白质PCC分析图

3.1.5 RSD 分析

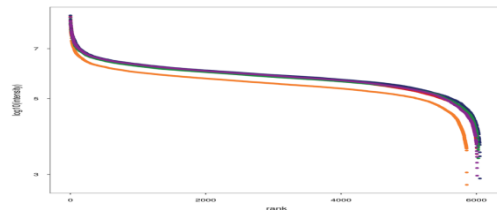
样本间蛋白定量值的相对标准差（RSD）越小，表明蛋白质组学的定量重复性越好。



样本组间鉴定到的蛋白质RSD分析图

3.1.6 蛋白质丰度分析

对所有组的样本鉴定到的蛋白质丰度做散点图分析，如下所示。



蛋白质丰度分布散点图

说明：横坐标为蛋白表达量的排名，纵坐标为蛋白的强度值（log10转化）

3.2 表达差异分析

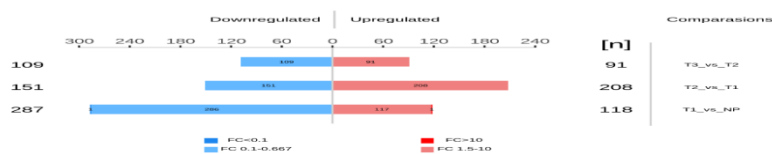
3.2.1 差异结果数量统计

为了分析不同组间具有表达差异的蛋白质，对实验数据进一步进行差异筛选。

在显著性差异蛋白质筛选中，以表达倍数(Fold Change, FC) > 1.5 倍（上调大于 1.5 倍或下调小于 0.67 倍）且 P value < 0.05（T-test 或其他）为标准，得到比较组间的上调、下调蛋白质数目，如下表中 Significantly changing in abundance 列。同时，将结果以柱状图形式呈现，其中上、下调 > 10 倍的蛋白数目以更深颜色标注，如下图。

蛋白质定量差异结果统计表

Comparisons	Significantly changing in abundance			Consistent presence/absence expression profile	
	Upregulated	Downregulated	All	Upregulated	Downregulated
T3_vs_T2	109	91	200		
T2_vs_T1	151	208	359		
T1_vs_NP	287	117	404		

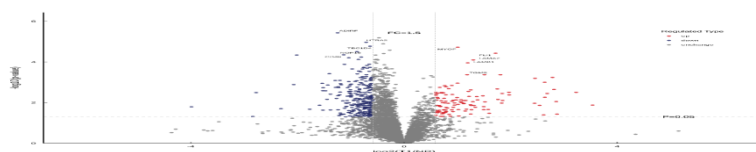


蛋白质定量差异结果柱状图

说明：Comparisons：差异比较组；Significantly changing in abundance：符合筛选倍数和 p value 的差异表达蛋白质；Consistent presence/absence expression profile：一组样品中半数及半数以上不为空值，另一组所有数据均为空值的差异蛋白质。Upregulated：上调差异表达蛋白质；Downregulated：下调表达蛋白质；All：所有差异表达蛋白质。

3.2.2 火山图

为了展示比较组间蛋白质的显著性差异，将比较组中蛋白质以表达差异倍数（Fold change）和 P value（T-test）两个因素为标准绘制火山图，其中显著下调的蛋白质以蓝色标注（ $FC < 0.67$ 且 $p < 0.05$ ），显著上调的蛋白质以红色标注（ $FC > 1.5$ 且 $p < 0.05$ ），无差异的蛋白质为灰色，并对上下调蛋白差异最显著的 top5 进行标注，结果如图所示。

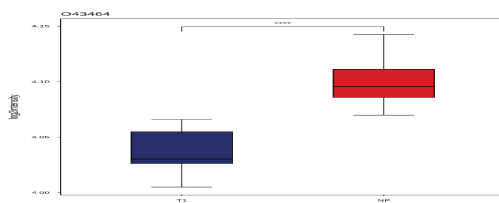


groupvs组火山图

说明：横坐标为差异倍数（以2为底的对数变换），纵坐标为差异的显著性P-value（以10为底的对数变换）。图中红色点为上调的显著性差异表达蛋白质，蓝色点为下调的显著性差异表达蛋白质，灰点为无差异变化的蛋白质。标注ID的点为差异最显著的top5上、下调蛋白。

3.2.3 差异蛋白表达箱线图

为了更直观的展示差异蛋白在不同组之间的表达差异，利用箱线图的形式对两组间差异表达的蛋白进行展示。报告中仅展示了一个比较组一个差异蛋白的箱线图，其他比较组差异蛋白的在附件中展示箱线图。



groupvs组差异蛋白箱线图

说明：横坐标为组别，纵坐标为表达量（以2为底的对数变换），图中红色和蓝色分别代表该差异蛋白在不同样本中的表达量。*表示差异显著性程度，***表示 $p < 0.001$ ，**表示 $0.001 < p < 0.01$ ，*表示 $0.01 < p < 0.05$ 。具体结果可查看附件。

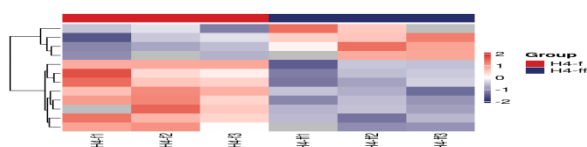
3.2.4 聚类分析

3.2.4.1 差异蛋白表达层次聚类分析

为了分析组间、组内样本的表达模式，检验本项目分组合理性，说明差异蛋白质表达量变化是否可代表生物学处理对样本造成的显著影响，采用层次聚类算法

(Hierarchical Cluster) 对比较组的差异表达蛋白质进行分组归类，并以热图 (Heatmap) 的形式展示。基于相似性基础，聚类分组结果中，一般组内的数据模式相似性较高，而组间的数据模式相似性较低，因此可以有效区分组别。

如下图，以倍数变化>1.5 倍且 P value<0.05 (T-test 或其他) 的筛选标准，得到的显著差异表达蛋白质可以有效的把比较组分开，说明差异表达蛋白质筛选能够代表生物学处理对样本影响。

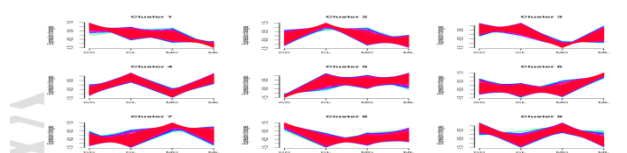


groupvs组差异表达蛋白质聚类分析图

说明：层次聚类结果以树型热图表示，横轴表示样本，用不同颜色表示样本分组信息，纵轴代表差异表达的蛋白质（即纵坐标为显著性差异表达的蛋白质），显著性差异的蛋白质在不同样品中的表达量用Z-score方法进行标准化后以不同颜色在热图中展现，其中红色代表显著性上调的蛋白质，蓝色代表显著性下调的蛋白质，灰色部分代表无蛋白质定量信息。其他图示见附件。

3.2.4.2 多组蛋白表达模式聚类

为了分析多组样本的所有蛋白整体表达模式，说明蛋白质表达量变化趋势。采用Mfuzz软件的fuzzy c-means (FCM) 算法进行分析，根据所有蛋白的表达趋势分为不同的表达模块。本项目的表达模式及趋势分类如下图展示。（本分析仅适用于3组及以上，2组及以下无此分析，如有具有时间梯度或者不同疾病进程阶段，需作图之前说明标注顺序）。



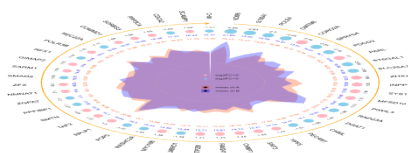
多组蛋白表达趋势聚类图

说明：横坐标代表不同组别，纵坐标表示均一化之后的表达量变化。每一个Cluster的线条指蛋白中表达趋势的一类蛋白。

3.2.5 雷达图 (Radar Chart)

用于展示多个差异蛋白在比较组中的相对表达水平。第一圈表示多个差异蛋白（人和小鼠展示

的是差异蛋白所对应的基因)；第二圈的橙色箭头当样本有重复时，表示差异蛋白对应的P value或者CV值，由小到大排序，若样本无重复，则表示差异蛋白差异倍数Log2转换后的绝对值由大到小排序；第三圈表示Log2转换的比较组的差异倍数，粉红色表示上调，浅蓝色表示下调，点越大表示差异倍数越大；第四圈表示两组的平均定量值。详见：



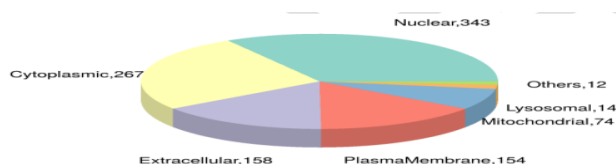
groupvs组的差异表达雷达图

3.3 功能分析

3.3.1 亚细胞定位分析

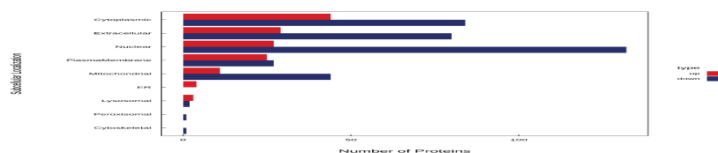
细胞器 (Organelle) 是细胞质内具有一定形态和功能的微器官 (如线粒体、内质网等)，它是蛋白发挥不同功能的重要场所。不同细胞器往往行使不同细胞功能，故分析蛋白的亚细胞定位有助于我们进一步探究蛋白质在细胞中发挥的功能。

采用亚细胞结构预测软件CELLO (<http://cello.life.nctu.edu.tw>) [1] 对所有差异表达的蛋白质进行亚细胞定位分析，分析结果以表格形式输出，参见输出文件。同时，以饼状图形式展示各细胞器中的蛋白质数目与分布比例，如下图。



groupvs 组差异表达蛋白质亚细胞定位分布饼图

对每个比较组的差异蛋白质进行亚细胞定位统计分析，分别统计上下调蛋白质数目，并以柱状图的形式展示；下图仅展示了一个比较组的结果，其他比较组结果见附件。



亚细胞定位结果上下调比较柱状图

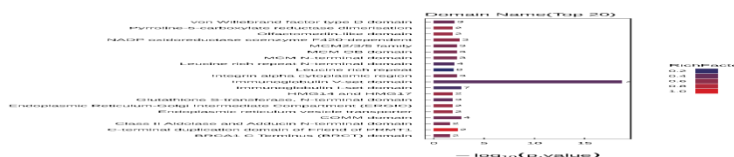
说明：纵坐标代表亚细胞定位，横坐标代表该亚细胞注释到的差异蛋白质数量，红蓝色代表上下调的蛋白质。

3.3.2 结构域分析

蛋白质结构域 (domain) 是在较大的蛋白质分子中，由于多肽链上相邻的超二级结构紧密联系，

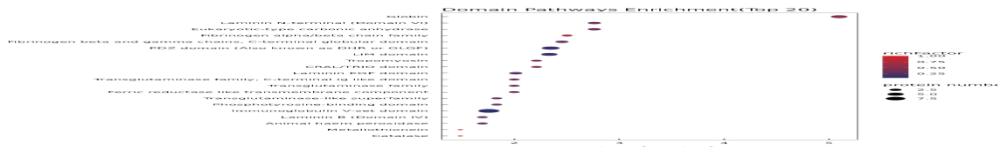
形成两个或多个在空间上可以明显区别的局部区域。一般每个结构域由几十至几百个氨基酸残基组成，各有独特的空间结构，并承担不同的生物学功能。一般来说，蛋白与蛋白（或其他小分子）的相互作用常以结构域为单位，结构域内氨基酸或修饰发生改变，可能引起蛋白关键功能的改变，故后续氨基酸突变功能实验可以以此为参考。因此，结构域预测对于研究蛋白关键功能区域及其发挥的潜在生物学作用具有重要意义。

采用结构域预测软件interproscan^[2]对差异表达蛋白质进行结构域预测，分析结果以表格形式输出，参见输出文件。同时，以柱状图形式展示Domain中的蛋白数目(前20)，如下图所示。



groupvs组差异表达蛋白质结构域分析柱状图

为了揭示差异表达蛋白质的结构域富集特征，并通过评价某个结构域条目下的蛋白质富集度的显著性水平，找到研究者最关心的显著富集结构域及其对应差异蛋白，采用 Fisher 精确检验 (Fisher' s Exact Test) 对差异表达蛋白质进行结构域富集分析，如下图。



groupvs组结构域富集分析气泡图

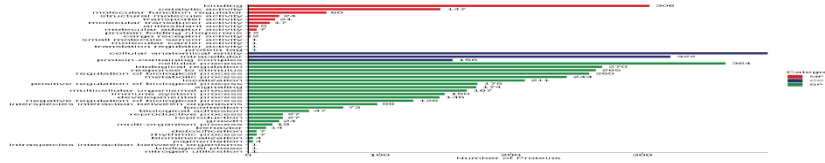
说明：图中横坐标为某结构域分类的富集显著性，即基于Fisher精确检验 (Fisher' s Exact Test) 计算P值 (取 $-\log_{10}$)，横坐标的值越大表示对应的结构域分类下富集度的显著性水平越高，颜色梯度代表富集因子的大小 (Rich Factor ≤ 1)，富集因子表示注释到某结构域的差异表达蛋白质数目占注释到该结构域的所有鉴定到的蛋白质数目的比例，颜色越接近红色代表Rich Factor值越大，气泡的大小表示每个结构域分类下差异蛋白质数目。

3.3.3 GO 功能分析

为了全面了解蛋白在生物体中的功能、定位及参与的生物学途径，通过基因本体 (Gene Ontology, GO) 对蛋白质进行注释。GO是一个标准化的功能分类体系，提供了一套动态更新的标准词汇表用以描述生物体中基因和基因产物的属性。GO功能注释主要分为3类 生物过程(Biological Process, BP)，分子功能 (Molecular Function, MF) 和细胞组分 (Cellular Component, CC) ^[3]。

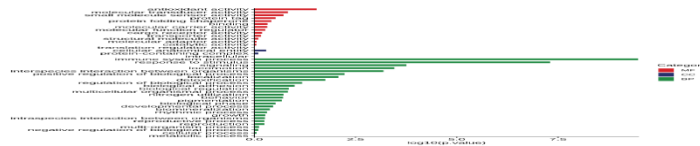
本项目采用Blast2Go (<https://www.blast2go.com/>) ^[4]软件分别对所有显著差异表达蛋白质、显著上调差异蛋白质、显著下调差异蛋白质进行GO功能注释，注释结果表格参见输出文件。同时，在GO二级功能注释层级上对显著差异蛋白数目进行统计，结果如下。

3.3.3.1 所有显著差异表达蛋白质GO功能分析



groupsvs组所有显著差异表达蛋白质的GO注释统计图 (level 2)

说明：图中纵坐标表示GO 二级功能注释信息 (GO Level2)，包含分子功能 (Molecular Function)，细胞组分 (Cellular Component) 和生物过程 (Biological Process)，依次以红色，蓝色，绿色予以区分；横坐标表示每个功能分类下的显著差异表达蛋白质数目。一般情况下，某一功能类别对应的差异表达蛋白质数目越多，说明该功能越重要，需要重点关注或者进行后续深入机制的探讨。

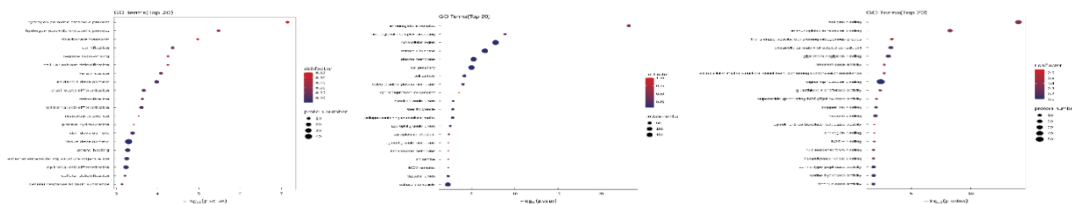


groupsvs组所有显著差异表达蛋白质的GO注释统计图 (level 2)

说明：图中纵坐标表示GO 二级功能注释信息 (GO Level2)，包含分子功能 (Molecular Function)，细胞组分 (Cellular Component) 和生物过程 (Biological Process)，依次以红色，蓝色，绿色予以区分；横坐标表示富集显著性，即基于Fisher精确检验 (Fisher' s Exact Test) 计算P值 (取 $-\log_{10}$)，横坐标的值越大表示对应的GO功能下富集度的显著性水平越高。

为了揭示所有差异表达蛋白质的整体功能富集特征，并通过评价某个 GO 功能条目的蛋白质富集度的显著性水平，找到研究者最关心的显著富集 GO 条目，采用 Fisher 精确检验 (Fisher' s Exact Test) 对差异表达蛋白质进行 GO 功能富集分析。

将所有差异表达蛋白质与参考物种的全部蛋白质 (或实验鉴定到的所有蛋白质) 以 GO 功能的注释结果进行对照比较，通过 Fisher 精确检验 (Fisher' s Exact Test) 得出两者差异的显著性，从而找到所有差异表达蛋白质富集的功能类别 ($P \text{ value} < 0.05$)。用气泡图分别显示 GO 三大分类下的 GO 条目富集情况。

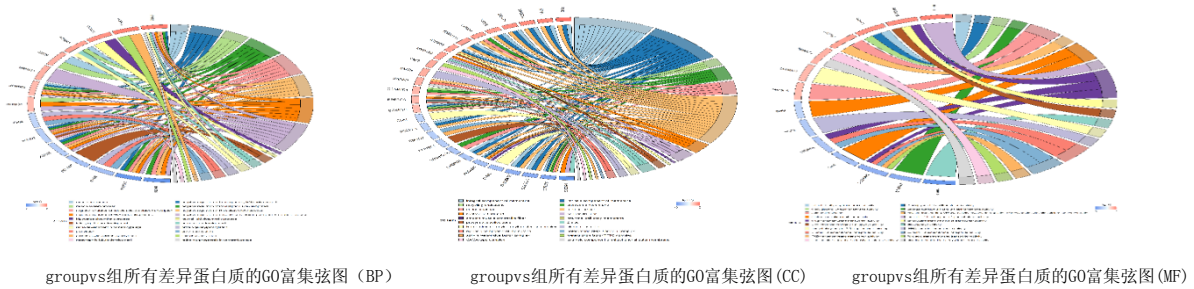


groupsvs组所有差异蛋白质的GO富集气泡图 (BP) groupsvs组所有差异蛋白质的GO富集气泡图 (CC) groupsvs组所有差异蛋白质的GO富集气泡图 (MF)

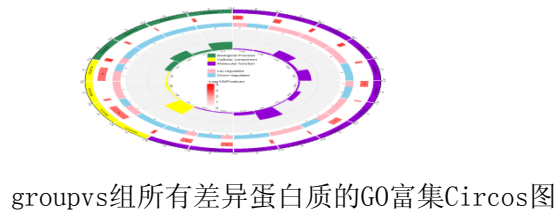
说明：图中横坐标为某GO功能的富集显著性，即基于Fisher精确检验 (Fisher' s Exact Test) 计算P值 (取 $-\log_{10}$)，横坐标的值越大表示对应的GO功能下富集度的显著性水平越高，颜色梯度代表富集因子的大小 (Rich Factor ≤ 1)，富集因子表示注释到某GO功能的差异表达蛋白质数目占注释到该GO功能的所有鉴定到的蛋白质数目的

比例，颜色越接近红色代表Rich Factor值越大，气泡的大小表示每个GO功能分类下差异蛋白质数目。一般情况下，GO富集结果中P值越小 ($P < 0.05$)，对应GO功能分类从统计学上讲富集越显著，而与GO功能分类相关的差异表达蛋白质数目在某种程度上反映实验设计中生物学处理对各个分类的影响程度大小，因此可以结合两方面因素，选择较为感兴趣的生物学功能以及显著性影响这些功能的差异表达蛋白质进行后续生物学实验验证或机制研究。

显著富集弦图，用于展示显著富集的GO功能与蛋白之间的关系，图的右侧表示富集到的GO功能，与右侧功能相连的是该功能中的差异蛋白，差异蛋白的顺序依据其Log2FC值从大到小排列。该图能直观的展示富集GO功能中每个蛋白的名字、差异程度。

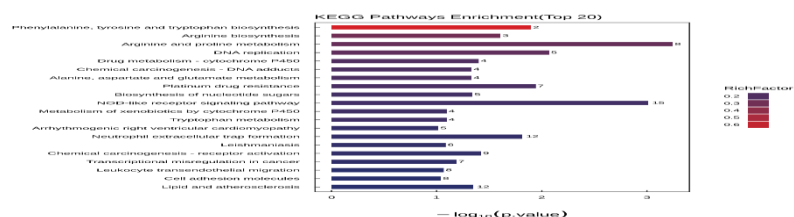


Circos 每一圈含义 (由外到内)：第一个圆圈：富集的 GO 功能一级分类，圆圈外是蛋白数量的坐标标尺。不同的颜色代表不同的类别；第二个圆圈：功能富集显著性 P value 经 $-\log_{10}$ 转换后的值。数值越大，颜色越红；第三圈：上、下调差异蛋白数量条形图，红色代表上调差异蛋白数量，蓝色代表下调差异蛋白数量；第四个圆圈：每个功能的富集因子的大小 ($\text{Rich Factor} \leq 1$)。注：富集条目少于 4 不显示。



3.3.4 KEGG 通路分析

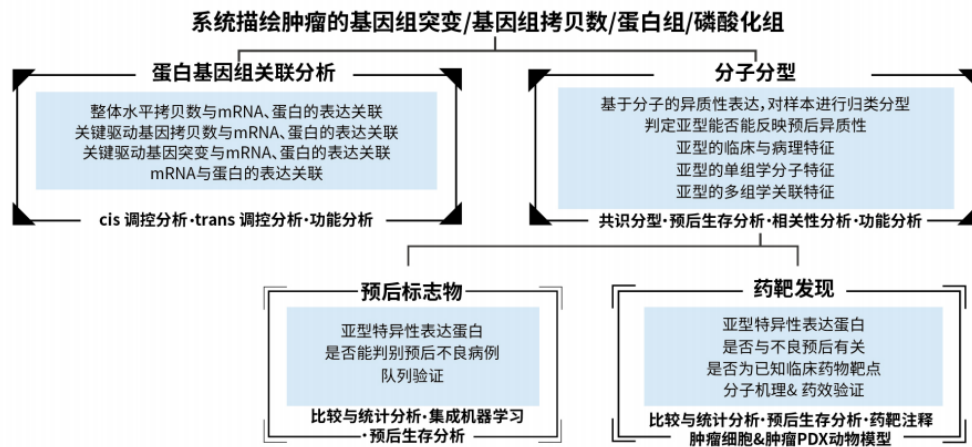
为了更系统全面地解析生物学过程、疾病发生机理、药物作用机制等，往往需要从一系列蛋白质协调作用的角度阐述变化规律，如代谢通路变化。因此通过KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) 数据库对蛋白质解析注释^[5]。KEGG是由研究人员阅读海量文献后，将众多的代谢途径以特定的图形语言整理而成的数据库，其收录了新陈代谢，遗传信息加工，环境信息加工，细胞过程，生物体系统，人类疾病以及药物开发等多个方面的通路信息，常用于通路研究。



groupvs 组显著差异蛋白质的 KEGG 通路注释统计图 (Top20)

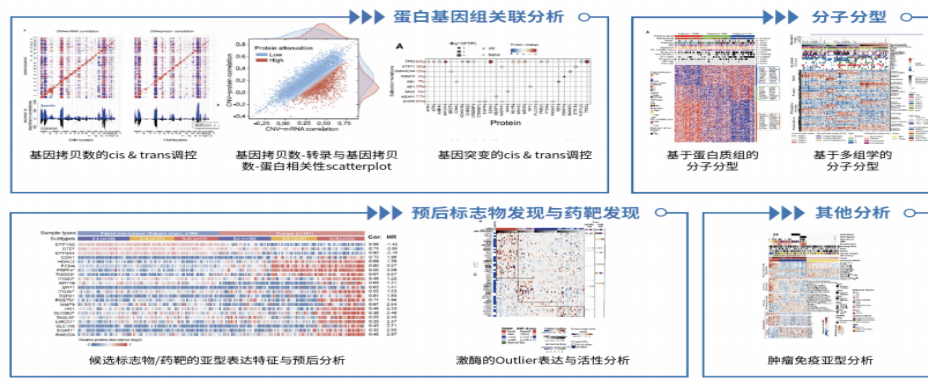
说明：图中纵坐标是含差异表达蛋白质参与的通路名称，横坐标表示富集显著性，即基于Fisher精确检验 (Fisher's Exact Test) 计算P值 (取 $-\log_{10}$)，横坐标的值越大表示对应的通路下富集度的显著性水平越高。一般情况下，参与某一通路的差异表达蛋白质数目越多，说明该通路越重要，需要重点关注或者进行后续深入机制的探讨。

1) 分析流程（肿瘤举例）



2) 分析内容

- 1.1. 多维度质量控制分析
- 1.2. 基于无监督聚类的分子分型分析
- 1.3. 分子亚型的预后差异分析
- 1.4. 分子亚型的病理、分子等临床关联与特征分析
- 1.5. 分子亚型的预后标志物分析: 机器学习标志物筛选, 标志物临床关联分析、标志物分子关联分析
- 1.6. 分子亚型的药靶发现分析
- 1.7. 蛋白基因组分析: 基因-转录-蛋白相关性分析, cis、trans调控分析
- 1.8. 分析图例展示



4 DIA 蛋白组学质控

采集前仪器状态评价：293T细胞进行鉴定能力测试，Astral DIA上机8分钟蛋白鉴定数量>8000。

4.1 QC 样本评价

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 Analysis, PCA）和Pearson相关性分析来评估QC的质量。

4.2 QC 样本 CV 值分析

CV值越小，PCA中组内样本聚集性越高，相关性系数越接近1，说明实验体系稳定。该项目QC样品CV中值小于20%，说明该项目检测过程中波动较小，体系较为稳定。

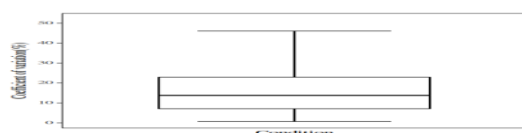


图1 QC的CV值分布箱线图

注：横坐标：QC样本；纵坐标：CV值在样本中的分布区间。一般QC的CV20%以内的蛋白比例越高越好



图2 QC的CV值分布图

注：横坐标：QC的CV值范围；纵坐标：各QC样本的变异系数CV区间的数量。一般QC的CV20%以内的蛋白比例越高越好

4.2.1 QC 样本 PCA 分析

主成分分析（Principal Component Analysis, PCA）是一种非监督的数据分析方法。在主成分分析中，样本的蛋白表达轮廓越相似，则聚集程度越高，样本差异越大，则距离越远。QC样本的PCA聚集程度，反映了该项目采集过程中的稳定性，QC样本一般聚集在一起，说明样本采集过程中系统稳定。

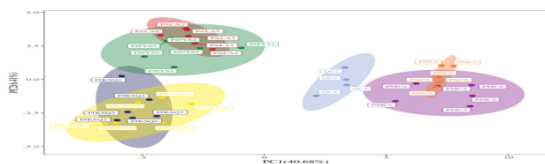


图3 QC样本的 2D-PCA图

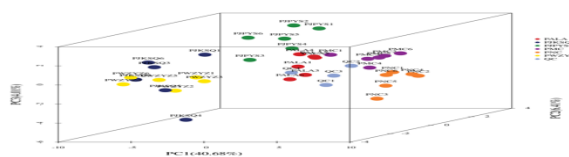


图4 QC样本的3D PCA 图

注：PC1表示第一主成分；PC2表示第二主成分；PC3表示第三主成分，每个点代表一个样本。不同颜色代表不同组别

4.2.2 QC 样本相关性分析

QC样本的强度相关性反映了项目检测过程中的稳定性，一般QC的相关性达到0.9以上，说明体系较为稳定。

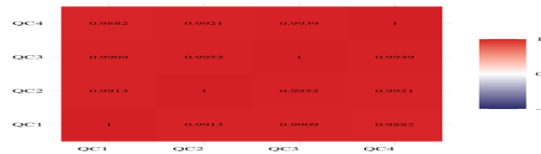


图5 QC样本相关性分析图

注：横坐标和纵坐标分别标记强度值的对数值

4.3 组间样本鉴定数量评价

4.3.1 组间样本鉴定数量评价

对不同组别之间的样本进行鉴定数量统计，反映组间样本鉴定数量是否有明显的差别，以箱线图形式进行展示。

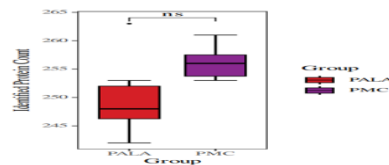


图6 样本蛋白鉴定数量箱线分布图

注：横坐标代表组别，纵坐标表示蛋白鉴定数量。每个点表示一个样本，红色和蓝色分别代表不同的组别。P值反映了两组差异大小，如果组间没有显著性差异，用ns表示，一般*说明两组间有明显的差别

4.3.2 样本定量波动评价

从定量角度直观展示不同组样本以及样本内蛋白的定量值高低分布，从而观测是否有明显离群样本存在，本项目所有样本及QC样本的强度分布以箱线图形式展示如下。

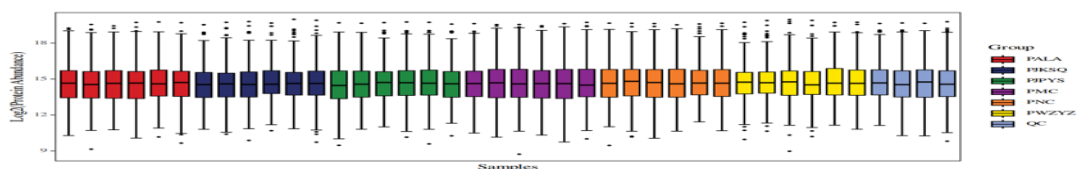


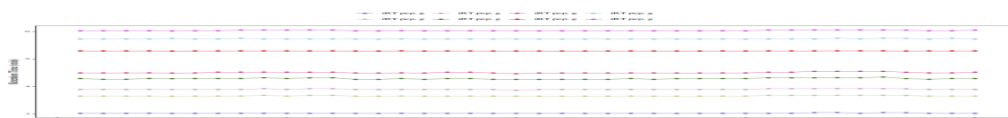
图7 样本定量强度抖动分布图

注：横坐标代表不同样本，纵坐标表示蛋白表达量（以2为底的对数）。不同颜色分别代表不同的组别

4.4 检测体系评价

4.4.1 iRT 保留时间

实验的一个关键点是使用内标校正肽段（本项目使用iRT Kit），iRT的保留时间可用于对各样本间的数据进行对齐校正，进行各个样品LC-MS/MS原始数据的对比分析。因此，iRT肽段在各个样品分析时的色谱行为稳定性较为重要[1]。如下图为本项目中的iRT Kit的各肽段在色谱上的洗脱时间数据，可见主要的iRT均被检测到，并且保留时间整体较稳定：



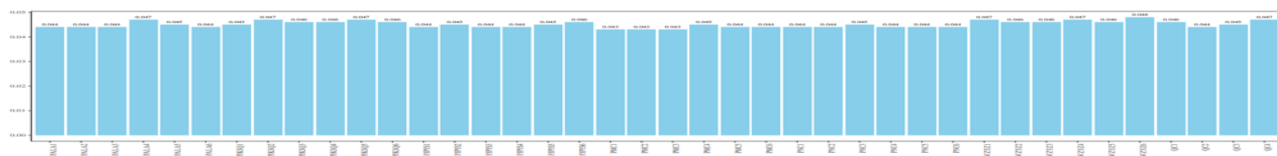
[iRT_Peptide_RT.png]

图8 iRT肽段（校正肽段）的洗脱时间图

注：横坐标为样本上机顺序；纵坐标为保留时间

4.4.2 平均半峰全宽

半峰全宽（FWHM）指色谱峰在半高度处的峰宽，反映了液相的峰分离情况。一般认为，所有样本的平均半峰全宽应无太大波动，说明体系稳定。在本项目中，平均半峰全宽波动满足要求，具体结果如下：



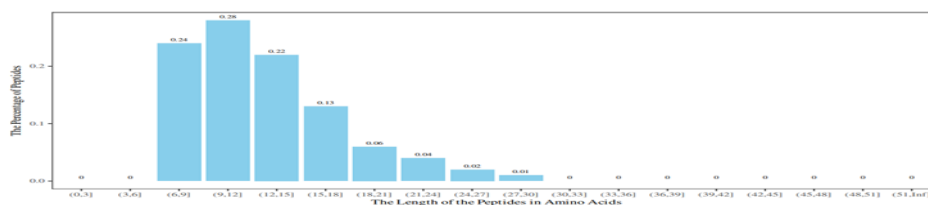
[FWHM.png]

图9 平均半峰全宽

注：横坐标为样本；纵坐标为平均半峰全宽

4.4.3 肽段长度分布

质谱仪的母离子扫描范围有限制，合适长度的肽段才能被质谱仪检测到。一般认为常规样本的酶切肽段长度主要分布在7-25个氨基酸。在本项目中，肽段长度分布满足要求，具体结果如下：



[Peptide_Length_Distribution.png]

图10 肽段序列长度分布图

注：横坐标为鉴定到的肽段序列的氨基酸长度区间；纵坐标为肽段长度区间内包含的肽段数占总肽段数的百分比

附件三 售后服务

1 服务内容

1.1 提供专业的学术顾问咨询给出文章投稿建议，并提供文章杂志要求的分辨率和大小合格的图表；

1.2 对审稿人的修回意见提供专业答复供参考；

1.3 定制化信息分析：完成项目方案内的定制化信息分析内容

1.4 定制化绘图：在项目合作期内，为合作伙伴发表项目产出论文提供方案内的高端定制绘图服务

1.5 应急解决方案：公司设立技术支持领导小组保证突发事件发生时，能够迅速召集技术人员，立即制定应急技术方案对一般性技术故障，如果检测意外失败、实验意外失败（未达到实验结果的质控标准），可以评估后安排立即复测。不另计费用。

1.6 其他售后服务：思路拓展、投稿建议、生信云平台等。

2 培训与维护

2.1 根据需求提供技术培训及咨询服务；对DIA蛋白组学进行培训。

2.2 技术咨询与指导：为招标方项目参与人员提供技术咨询与指导，包括质谱原理，实验操作，数据处理以及其他与本项目相关的技术指导

2.3 提供至少1次组学分析培训交流

3 售后服务方式

3.1 电话服务，能7*24小时处理客户问题，全国范围内有相应的销售与技术，免费进行疑难问题解答。

3.2 远程连接技术支持人员，通过腾讯会议等在线会议方式，对数据分析结果进行指导。

3.3 往来信函、传真、电子邮件，解答用户在使用中碰到的各种技术问题。

3.4 现场服务：在客户授权的情况下，针对客户已有数据结果进行分析，提供解决方案。

3.5 定期汇报：项目进度以及数据分析处理进程。

4. 服务响应时间

4.1 我们将对用户 provide 全方位的售后服务，并提供最佳的服务响应时间。

4.2 电话服务技术支持与服务时间为8:30-17:00, 周一至周五(国家法定的休息日和节假

4.3 数据验收合格后，至少提供2年的售后服务；

4.4 7*24小时处理客户问题

5. 保密承诺

5.1 保密信息范围

5.1.1 本条款所述“保密信息”指投标方在参与本项目过程中以任何形式获取的、或可被合理识别为具有保密性质的信息，包括但不限于：

- (1) 技术类信息：技术方案、设计图纸、源代码、实验数据、专利技术、工艺流程等
- (2) 商业类信息：商业计划、营销策略、成本构成、报价明细、供应商名录等
- (3) 运营类信息：客户数据库、内部研究报告、质量检测报告、生产计划等
- (4) 其他载体信息：包含上述内容的文档、电子数据、样品、模型、录音录像等

5.2 保密义务

5.2.1 保密期限自首次接触保密信息之日起持续至相关信息进入公知领域后五年，以较晚者为准

5.2.2 信息接收方应采取不低于自身商业秘密保护标准的措施，包括：

- (1) 建立分级保密制度，对核心机密信息实施物理隔离
- (2) 访问权限控制：仅限必要知悉的授权人员接触
- (3) 存储介质加密：对电子文档采用256位加密技术
- (4) 纸质文件管理：设置专用保密柜并建立借阅登记制度

5.3. 使用限制

5.3.1 未经信息披露方书面同意，投标方不得：

- (1) 向任何第三方（包括关联企业）披露保密信息
- (2) 将保密信息用于本项目以外的商业目的
- (3) 反向工程、复制或仿制基于保密信息开发的产品
- (4) 允许第三方查阅、摘抄、传播保密信息内容

5.4 例外情形

5.4.1 保密义务不适用于以下情况：

- (1) 信息接收方能证明在披露前已合法持有该信息
- (2) 根据法律法规要求或司法程序必须披露时（但须提前5个工作日书面通知）
- (3) 经国家保密行政管理部门认定已解密的信息
- (4) 通过公开渠道可获取的非涉密信息

5.5 违约责任

5.5.1 发生泄密事件时，违约方应：

- (1) 立即采取补救措施并书面报告详细情况
- (2) 承担不低于泄密信息评估价值三倍的违约金

(3) 赔偿因此导致的所有直接和间接损失

(4) 承担调查取证、诉讼仲裁等相关费用

5.6 特别约定

5.6.1 项目终止后30个工作日内，投标方应：

(1) 返还所有载有保密信息的实体资料

(2) 彻底销毁电子备份（需提供专业机构出具的销毁证明）

(3) 保证其员工、顾问等关联人员继续履行保密义务

5.6.2 保密信息的知识产权始终归属信息披露方所有

5.7 法律效力

5.7.1 本条款独立于主合同存在，不因合同终止、解除或无效而失效

5.7.2 争议解决适用中华人民共和国法律，由甲方所在地法院管辖

5.8 承诺与保证

5.8.1 投标方确认已建立完善的保密管理体系并通过ISO/IEC 27001认证

5.8.2 保证每年对涉密人员进行不少于16学时的保密专项培训

5.8.3 承诺在合作期间及终止后五年内持续履行保密义务

北京科技园拍卖招标有限公司 中标通知书

SZYGCG11000026210200167000-XM001-718903

上海中科新生命生物科技有限公司：

第7包 临床队列样本多组学检测分析(标段编号：11000026210200167000-XM001-7)评标工作已结束。根据招标文件的规定及评标委员会的评审结果，经北京市心肺血管疾病研究所确认，贵公司为该项目中标人。

中标金额：人民币494500.00元。

请贵公司接到通知后，及时与招标人联系办理签订合同等事宜。

按照北京市财政局、中国人民银行营业管理部联合发布《关于推进政府采购合同线上融资有关工作的通知》（京财采购〔2023〕637号），我市已推出政府采购合同线上融资“一站式”服务，有需求的供应商，可访问北京市政府采购网“政采贷”专区，或中征平台（<https://www.crcrfsp.org.cn/index.do>），查询各金融机构相关融资产品，办理“政采贷”业务。

特此通知。

北京科技园拍卖招标有限公司

2026-06-01 14:41:36