第三章 采购需求

**第1包 基因测序技术服务和代谢组学检测服务**

**一、技术要求**

基因测序技术服务参数

1. 实验样本：1000例小鼠粪便样本
2. 测序平台：华大测序平台，PE150测序模式
3. 数据质控：
4. 每个样本提供raw data大于10G的测序数据。
5. 测序碱基质量Q30>85%
6. 分析内容：
7. 物种注释、物种丰度分析：同时关注细菌、真菌、古菌、病毒。
8. 基因功能注释：通过常用数据库KEGG、GO、VFDB、Metacyc、eggNOG等对基因功能进行注释。
9. Alpha多样性:比较不同组之间的alpha多样性差异，包括香农指数，丰富度，均匀度等；
10. 降维聚类分析
11. PCA主成分分析:将高维数据，如物种，基因和功能丰度降维后在二维/三维上展示。
12. PCoA主坐标分析:常用于分析样本之间的相似性，基于样本之间的距离将高维数据投影到低维空间展示。
13. NMDS 非度量多维尺度分析:将高维样本在低维空间进行定位，分析和归类，同时又保留样本原始关系的方法。
14. 组间差异分析
15. PERMANOVA多因素方差分析:基于样本之间的距离分析不同表型变量(如分组，年龄等)对样本差异的解释度，并用置换检验进行显著性分析。
16. 组间 wilcox检验差异分析:非参检验分析两组之间基因、功能和菌群之间的差异。
17. LefSe差异分析:比较两组或多组之间的差异，获得组间丰度差异显著的 biomarker。
18. 交付周期：
19. 投标方在收到采购方样品及相关信息单(样品快递到达)后 1个工作日内开始样品检测；
20. 投标方在样品检测合格后，10个工作日内完成全部检测；
21. 投标方在测序完成后的 2 个工作日内完成测序数据的处理工作并向采购方提供项目完成的书面报告以及所有测序数据、分析结果。
22. 若在测序或数据处理中遇到技术障碍，投标方应第一时间(最迟不得超过1个工作日)以书面或电邮等有效方式通知采购方，若双方能够有效沟通解决，则双方有效沟通时间在采购方确认后可以从上述2、3款所述的工作日内扣除，投标方不得以任何不正当理由拖延沟通时限。
23. 售后服务：
24. 根据客户需求提供个性化、定制化分析结果，关键发现和结论。
25. 以上费用包含在本项目报价内。
26. 其他要求：
27. 供应商应为本项目配备2-3名分析技术人员，满足项目检测要求；
28. 在项目完成前可对数据进行持续的高级分析和定制化分析，并在甲方提出分析需求的一周内进行数据分析的反馈；对数据分析需根据实验设计、数据结果进行参数优化，基于采购人的研究需求提供可行的分析方法并且执行数据分析和挖掘，在对于探索性的生物学问题可以对数据多次分析，尝试不同的软件方法，调试不同的参数对数据进行分析和挖掘；
29. 严格执行合同相关规定，对测试数据保密
30. 数据保留时间：原始测序数据、分析结果等数据至少可保留10年。
31. 提供培训：在服务周期内提供至少3次专门的技术培训，内容涉及但不限于：建库实操；上机实操，R语言培训；协助搭建生信分析pipeline；常用绘图软件操作培训；结果解读。费用包含在本项目报价内。

代谢组学检测服务参数

1. 总体需求

（1）样本收集与处理：

收集1000例小鼠血液样本。

心脏取血：麻醉小鼠后，在左侧肋间垂直进针至心脏采血，注意避免损伤脏器，采血后棉球压迫止血。

对血液样本进行预处理，包括离心、分装、冷冻保存等，确保样本质量。

（2）非靶向代谢组学分析：

采用LC-MS技术对血液样本进行非靶向代谢组学分析，系统鉴定血液中的代谢物。

优化LC-MS实验条件，确保代谢物的高覆盖率和高灵敏度检测。

（3）数据解析与定量分析：

开发或应用先进的代谢组学数据分析方法，提升非靶向数据的解析能力。

对代谢物进行定量分析，确保数据的准确性和可重复性。

（4）多组学数据的关联分析：

将代谢组学数据、菌群检测结果、血管平滑肌GPR146表达结果进行关联分析，探究菌群与代谢物和血管平滑肌GPR146表达之间的关系。

通过多变量统计分析，筛选出调控血管平滑肌GPR146表达的关键代谢小分子。

（5）结果验证与生物标志物筛选：

对筛选出的关键代谢小分子进行验证，确保其与血管平滑肌GPR146表达和血压的关联性。

（6）交付期限：

样品检测合格后的10个工作日内完成全部检测，完成检测后2个工作日内完成检测数据的处理工作。

1. 性能及可靠性需求

2.1 基本要求

（1）技术平台：供应商需具备成熟的LC-MS技术平台，能够进行高灵敏度、高分辨率的代谢物检测。

（2）数据质量：供应商需确保数据的准确性、可重复性和可靠性，提供详细的质量控制报告。

（3）合规性：供应商需遵守相关法律法规和行业标准，确保研究过程的合规性。

2.2 检测服务要求

2.2.1 检测仪器及检测需求

（1）LC-MS仪器性能：

质谱分辨率：≥ 60,000（全扫描模式）。

质量精度：≤ 2 ppm。

扫描速度：≥ 10 Hz。

（2）色谱分离性能：

色谱柱：C18反相色谱柱或其他适合代谢物分离的色谱柱。

流动相：需提供梯度洗脱方案，确保代谢物的有效分离。

保留时间稳定性：相对标准偏差（RSD）≤ 2%。

（3）数据采集与分析：

数据采集模式：全扫描（Full Scan）和数据依赖采集（DDA）或数据独立采集（DIA）。

代谢物鉴定：使用标准代谢物数据库（如HMDB、Metlin）进行代谢物鉴定。

定量分析：采用内标法或同位素标记法进行代谢物定量，确保定量准确性。

不同分析批次的数据可以整合。

2.2.2 供应商需同时提供以下服务

（1）样本预处理服务：

提供血液样本的预处理服务，包括离心、分装、冷冻保存等。

确保样本在运输和储存过程中的稳定性。

（2）数据分析服务：

提供完整的代谢组学数据分析服务，包括数据预处理、代谢物鉴定、定量分析和统计分析。

提供多变量统计分析（如PCA、PLS-DA）和代谢通路分析（如KEGG、MetaboAnalyst）。

（3）结果验证服务：

对筛选出的关键代谢小分子进行验证，包括靶向代谢组学验证或生物学验证。

提供验证实验的设计、执行和结果分析。

（4）报告与交付：

提供详细的研究报告，包括实验设计、数据分析结果、关键发现和结论。

提供原始数据、分析结果和可视化图表（如热图、通路图等）。

根据客户需求提供个性化、定制化分析结果，关键发现和结论

（5）技术支持与培训：

提供技术支持和咨询服务，解答研究过程中的技术问题。

提供代谢组学技术培训，包括实验操作、数据分析和结果解读。

以上费用均包含在本项目报价内。

2.2.3 其他要求

（1）供应商应为本项目配备2-3名分析技术人员，满足项目检测要求。

（2）严格执行合同相关规定，对测试数据保密。

（3）在项目完成前可对数据进行持续的高级分析和定制化分析，并在采购方提出分析需求的一周内进行数据分析的反馈；对数据分析需根据实验设计、数据结果进行参数优化，基于采购人的研究需求提供可行的分析方法并且执行数据分析和挖掘，在对于探索性的生物学问题可以对数据多次分析，尝试不同的软件方法，调试不同的参数对数据进行分析和挖掘；

（4）数据保留时间：原始测序数据、分析结果等数据至少可保留10年。