**第五章 采购需求**

**一、采购标的需实现的功能或者目标，以及为落实政府采购政策需满足的要求**

**(一)采购标的需实现的功能或者目标：**

本次招标为北京市呼吸疾病研究所为委托临床医学研究服务选择供应商，投标人应根据招标文件所提出的采购需求，制定具体服务方案，确保服务质量符合要求，以优良的服务和优惠的价格，充分显示自己的竞争实力。

**（二）为落实政府采购政策需满足的要求**

1. 促进中小企业发展政策：根据《政府采购促进中小企业发展管理办法》规定，本项目采购服务由小型或微型企业承接的，投标人应出具招标文件要求的《中小企业声明函》给予证明，否则评标时不予认可。投标人应对提交的中小企业声明函的真实性负责，提交的中小企业声明函不真实的，应承担相应的法律责任。（注：依据《政府采购促进中小企业发展管理办法》规定享受扶持政策获得政府采购合同的小微企业不得将合同分包给大中型企业，中型企业不得将合同分包给大型企业。）
2. 监狱企业扶持政策：投标人如为监狱企业将视同为小型或微型企业，且所投产品为小型或微型企业生产的，应提供由省级以上监狱管理局、戒毒管理局（含新疆生产建设兵团）出具的属于监狱企业的证明文件。投标人应对提交的属于监狱企业的证明文件的真实性负责，提交的监狱企业的证明文件不真实的，应承担相应的法律责任。
3. 促进残疾人就业政府采购政策：根据《三部门联合发布关于促进残疾人就业政府采购政策的通知》（财库〔2017〕141号）规定，符合条件的残疾人福利性单位在参加本项目政府采购活动时，投标人应出具招标文件要求的《残疾人福利性单位声明函》，并对声明的真实性承担法律责任。中标、成交投标人为残疾人福利性单位的，采购代理机构将随中标结果同时公告其《残疾人福利性单位声明函》，接受社会监督。残疾人福利性单位视同小型、微型企业。不重复享受政策。
4. 鼓励节能政策：投标人的投标产品属于财政部、发展改革委公布的“节能产品政府采购品目清单”范围的，投标人需提供国家确定的认证机构出具的、处于有效期之内的节能产品认证证书。国家确定的认证机构和节能产品获证产品信息可从市场监管总局组建的节能产品、环境标志产品认证结果信息发布平台或中国政府采购网（www.ccgp.gov.cn）建立的认证结果信息发布平台链接中查询下载。
5. 鼓励环保政策：投标人的投标产品属于财政部、生态环境部公布的“环境标志产品政府采购品目清单”范围的，投标人需提供国家确定的认证机构出具的、处于有效期之内的环境标志产品认证证书。国家确定的认证机构和环境标志产品获证产品信息可从市场监管总局组建的节能产品、环境标志产品认证结果信息发布平台或中国政府采购网（www.ccgp.gov.cn）建立的认证结果信息发布平台链接中查询下载。

**二、采购标的需执行的国家相关标准、行业标准、地方标准或者其他标准、规范**

符合已颁布的现行中华人民共和国认可的国家标准、地方标准和行业标准。如果这些标准内容有矛盾时，应按最高标准的条款执行。

**三、采购标的的数量、采购项目交付或者实施的时间和地点**

**（一）采购标的的数量**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 包号 | 品目号 | 标的名称 | 数量 | 是否接受进口产品 |
| 1 | 1-1 | 转录组测序 | 1项 | 否 |
| 1-2 | 测序等检测费用 | 1项 | 否 |
| 1-3 | 组学及相关检测费用 | 1项 | 否 |
| 1-4 | HPLC-MS/MS 鉴定实验；试剂盒申报 | 1项 | 否 |
| 1-5 | 化验加工 | 1项 | 否 |
| 1-6 | 脱机软件后处理 | 1项 | 否 |
| 1-7 | 质谱成像 | 1项 | 否 |
| 1-8 | 流式分析、免疫荧光检测及TUNEL | 1项 | 否 |
| 1-9 | 电镜 | 1项 | 否 |
| 1-10 | 基因芯片 | 1项 | 否 |
| 1-11 | 测试化验加工费 | 1项 | 否 |
| 1-12 | 测化费 | 1项 | 否 |
| 1-13 | 单细胞测序 | 1项 | 否 |
| 1-14 | 标志物测定费 | 1项 | 否 |
| 1-15 | DNA测序 | 1项 | 否 |
| 1-16 | 尿蛋白提取 | 1项 | 否 |
| 1-17 | 测试费 | 1项 | 否 |
| 1-18 | 基因组测序 | 1项 | 否 |
| 1-19 | 转录组测序 | 1项 | 否 |
| 1-20 | 透射电子显微镜检测 | 1项 | 否 |
| 1-21 | 技术服务费 | 1项 | 否 |
| 1-22 | 荧光定量PCR检测及分析 | 1项 | 否 |
| 1-23 | 流式细胞分析及共聚焦显微镜等 | 1项 | 否 |
| 1-24 | VOCs质谱检测 | 1项 | 否 |
| 1-25 | 用于血清和BALF检测 | 1项 | 否 |
| 1-26 | 炎症因子监测 | 1项 | 否 |
| 1-27 | 技术服务费 | 1项 | 否 |
| 1-28 | 引物和探针合成费 | 1项 | 否 |
| 1-29 | 流式检测 | 1项 | 否 |

**（二）采购项目交付或者实施的时间和地点：**

1、采购项目（标的）交付的时间：合同签订后5个月（2023年7月-11月）

2、采购项目（标的）交付的地点：北京市呼吸疾病研究所指定地点。

**四、采购标的需满足的服务标准、期限、效率等要求**

**（一）采购标的需满足的服务标准、效率要求**

（1）配合首都医科大学附属北京朝阳医院样本收取工作：根据实际收样情况，派遣冷链物流转运接收样本并做好样本交接及低温存储；

（2）在医院要求的时间内完成实验工作和实验内容；

（3）对实验数据结果分析使用中遇到的具体问题提供及时、专业的建议。

（4）投标人须针对本项目提供人员配备方案和整体服务方案

**（二）采购标的需满足的服务期限要求**

1. 服务期限要求：合同生效之日起5个月内

**五、采购标的物验收标准**

根据实验报告及双方确定的验收标准，详见采购合同

**六、采购标的的其他技术、服务等要求**

**第1包 品目1-1 转录组测序**

一、实验名称：筛选良恶性胸腔积液中的RNA m6A甲基化修饰测序以及标准数据分析

二、需求明细：15例良恶性胸腔积液中的RNA m6A甲基化修饰检测

三、实验工作主要内容及要求：

1、负责从提供的15份保存在Trizol中的细胞样本中提取RNA样品并进行质量检测。

2、负责提供m6A测序以及分析服务：使用illumina平台Nova seq2000进行测序，数据处理和结果报告。

**第1包 品目1-2 测序等检测费用**

1、实验名称：单细胞测序

2、需求明细：5例单细胞测序及分析

3、实验工作主要内容及要求：针对提供的5例受试者外周血进行裂解红细胞，提取活的有核细胞，将检测合格的细胞经洗涤、重悬，制备成合适浓度的单细胞悬液（10×测序细胞数量不少于3万）。对细胞进行质检，符合建库要求后进行后期文库构建实验；库检合格后进行上机测序，测序数据量不少于50G/样，获得原始数据后进行数据质控、Ranger分析、spots数据质量统计、seurat分析（聚类、基因差异分析）、基因功能富集分析（GO富集分析、KEGG富集分析），寻找不同亚群细胞的差异表达基因。

**第1包 品目1-3 组学及相关检测费用**

一、实验名称：外周血有核细胞单细胞测序

1、需求明细：6例慢性气道疾病受试者外周血有核细胞单细胞测序及分析

2、实验工作主要内容及要求：针对提供的6例受试者外周血进行裂解红细胞，提取活的有核细胞，将检测合格的细胞经洗涤、重悬，制备成合适浓度的单细胞悬液。根据目标细胞数进行相应的上样，上样后，若形成正常GEMs，则将GEMs吸出转移到PCR管中进行反转录及文库构建。库检合格后，上机测序。获得原始测序序列(Sequenced Reads)后，使用10X官方分析软件Cell Ranger对细胞进行分型和差异分析，后续对这些差异基因进行功能富集，从而鉴定亚群的功能特征。

二、实验名称：蛋白组学检测代谢组学检测数据分析

1、需求明细：6例肺动脉炎受试者样本目的蛋白提取，质谱检测及表达情况检测

6例肺动脉炎受试者样本目的代谢提取，定性和相对定量及表达情况检测，不少于2次多组学联合、相关分析、功能整合分析

2、实验工作主要内容及要求：针对收集的约200例患者外周血液样本进行靶向和非靶向代谢组学检测，探寻差异代谢物及受扰动的代谢通路，发现并验证潜在的差异代谢物，形成潜在的诊断生物标志物。代谢物鉴定确认；医疗器械试剂盒设计、包装及组装、注册等。

**第1包 品目1-4 HPLC-MS/MS 鉴定实验；试剂盒申报**

1、实验名称：HPLC-MS/MS鉴定实验；试剂盒申报

2、需求明细：病例组与对照组患者血液样本代谢扰动情况的测定

3、实验工作主要内容及要求：针对收集的约200例患者外周血液样本进行靶向和非靶向代谢组学检测，探寻差异代谢物及受扰动的代谢通路，发现并验证潜在的差异代谢物，形成潜在的诊断生物标志物。代谢物鉴定确认；医疗器械试剂盒设计、包装及组装、注册等。

**第1包 品目1-5 化验加工**

1、实验名称：毒理实验及辐射剂量估算

2、需求明细：进行毒理实验及人体器官辐射剂量估算实验

3、异常毒性试验：给正常昆明小鼠（18-20克）注射300倍剂量（参照正常人）的68Ga-CY03，注射体积为0.2 mL。注射前称重，注射后饲养一周，与对照组（生理盐水）对比体重及主要脏器病理变化；

4、人体器官辐射剂量估算：人体内辐射照射剂量根据68Ga-CY03在正常小鼠体内的生物分布结果计算得到。正常小鼠注入一定剂量68Ga-CY03之后，在不同的时间点（5 min，30 min，60 min，120 min，240 min）处死小鼠，取出感兴趣的器官，天平称重，并用γ计数仪测量放射性计数。同时取1%注射剂量的注射液进行γ计数仪测量放射性计数作为参考，经时间衰减校正后，计算不同时间各种脏器每克组织注射剂量百分率（%ID/g），然后由动物体内分布数据计算人体组织放射性摄取活度分数（A（t）/A0），绘制（A（t）/A0）-t曲线并计算曲线下面积。通过OLINDA/EXM 软件，估算得到相应人体各个器官的辐射照射剂量。

**第1包 品目1-6 脱机软件后处理**

1、实验名称：ELISA检测费

2、需求明细：采集外周血评估60位患者心功能

3、实验工作主要内容及要求：实验工作内容及主要要求:针对所检测指标选取精确度，稳定性好，文献报道多的检测试剂盒。将收集好的60例患者血浆样本进行冰上溶解，按照说明书进行前处理稀释，并加样，对照说明书操作步骤孵育及监测，并根据标准曲线计算样品检测指标浓度。为确保实验结果真实性，准确定，唯一性，委托方需提供检测过程的拍照图，及检测指标原始数据，用于后期统计描述。

**第1包 品目1-7 质谱成像**

1、实验名称：组织质谱分析

2、需求明细：4例胰腺癌受试者胰腺组织质谱分析

3、实验工作主要内容及要求：针对提供的4例受试者胰腺癌组织，进行福尔马林固定、石蜡包埋、切片。然后上机进行蛋白质谱分析，应用该质谱成像技术检测肿瘤免疫微环境，该系统可以同时检测数十种抗体，通过高通量蛋白定位研究，对胰腺癌免疫微环境中细胞构成和蛋白强度等信息进行分析。

**第1包 品目1-8 流式分析、免疫荧光检测及TUNEL**

1、实验名称：流式分析、免疫荧光检测及TUNEL

2、需求明细：50例肺动脉高压大鼠肺组织和心脏组织切片进行免疫荧光染色和TUNEL染色分析

3、实验工作主要内容及要求：针对提供的50例肺动脉高压大鼠肺组织和心脏组织，4%多聚甲醛组织固定，脱水，切片。切片提前半小时于敷箱中脱蜡，梯度酒精脱蜡至水，稀释的一抗室温孵育1小时，然后PBS冲洗，将第二抗体加于切片上，置加湿盒中室温温育1 h，以PBS洗玻片3次。显微镜下观察不同分组切片中目的蛋白变化情况和凋亡发生率。

**第1包 品目1-9 电镜**

1、实验名称：电镜进行心肌形态学检测

2、需求明细：20例肺动脉高压大鼠心脏组织制备电镜样品进行电镜观察检测心肌形态学改变

3、实验工作主要内容及要求：针对提供的20例肺动脉高压大鼠心脏组织制备电镜样品，制备电镜样品时动作迅速，组织从活体取下后应在最短时间内 (争取在1分钟内) 投入2.5%戊二醛固定液。所取组织的体积要小，一般不超过1mm×1mm×1mm。也可将组织修成1mm×1mm×2mm大小长条形。因为固定剂的渗透能力较弱，组织块如果太大，块的内部将不能得到良好的固定。机械损伤要小，解剖器械应锋利，操作宜轻，避免牵拉、挫伤与挤压。操作最好在低温(0℃~4℃)下进行，以降低酶的活性，防止细胞自溶。取材部位要准确。戊二醛固定，脱水包埋切片，制备好的电镜样品于显微镜下拍照保存。

**第1包 品目1-10 基因芯片**

1、实验名称：基因芯片

2、需求明细：12例肺动脉高压大鼠肺组织进行基因芯片分析测序

3、实验工作主要内容及要求：针对提供的12例肺动脉高压大鼠肺组织进行裂解，提取RNA，将检测合格的RNA样本进行转录组测序，文库构建完成后，对文库的插入片段长度和有效浓度进行检测，以保证文库质量。 库检合格后，不同文库按照目标测序数据量进行 pooling，上机测序。分析差异基因，对差异基因进行功能富集

**第1包 品目1-11 测试化验加工费**

一、实验名称：转录组测序分析

1、需求明细：4例小鼠血液测序及分析

2、实验工作主要内容及要求：针对提供的4例小鼠血液样本，用RNA提取试剂盒提取RNA，而后以片段化的 mRNA 为模版，随机寡核苷酸为引物，在 M-MuLV 逆转录酶体系中合成 cDNA 第一条链，随后用 RNaseH 降解 RNA 链，并在 DNA polymerase I 体系下，以dNTPs 为原料合成 cDNA 第二条链。纯化后的双链 cDNA 经过末端修复、加 A 尾并连接测序接头，用 AMPure XP beads 筛选 250-300bp 左右的 cDNA，进行 PCR 扩增并再次使用AMPure XP beads 纯化 PCR 产物，最终获得文库。文库构建完成后，先使用 Qubit2.0 Fluorometer进行初步定量，稀释文库至 1.5ng/ul，随后使用 Agilent 2100 bioanalyzer 对文库的 insert size进行检测，insert size 符合预期后，qRT-PCR 对文库有效浓度进行准确定量（文库有效浓度高于 2nM），以保证文库质量；库检合格后，把不同文库按照有效浓度及目标下机数据量的需求 pooling后进行 Illumina测序。测序的基本原理是边合成边测序（Sequencing by Synthesis）。在测序的 flow cell 中加入四种荧光标记的 dNTP、DNA 聚合酶以及接头引物进行扩增，在每一个测序簇延伸互补链时，每加入一个被荧光标记的 dNTP 就能释放出相对应的荧光，测序仪通过捕获荧光信号，并通过计算机软件将光信号转化为测序峰，从而获得待测片段的序列信息。分析内容包括：GC 含量分布、新基因预测、新转录本组装、新转录本注释、基因表达定量、主成分分析、差异基因统计、差异基因韦恩图、差异基因聚类、GO 功能富集分析、KEGG 通路富集分析、蛋白互作网络分析、基因表达分布、可变剪接分析、变异位点统计

二、实验名称：免疫组化染色剂分析

1、需求明细：50例小鼠样本的TGF beta R I和Smad3蛋白的免疫组化及分析

2、实验工作主要内容及要求：针对提供的50例小鼠组织样本，进行石蜡包埋，普通石蜡切片，免疫组化染色，图像采集以及阳性结果分析等，新鲜组织经过固定取材脱水透明浸蜡后用特定的包埋模具将前期处理的组织块与融化的石蜡一起包埋成组织蜡块，将修整好的蜡块置于石蜡切片机切片，厚3-4μm。切片漂浮于摊片机40℃ 温水上将组织展平，载玻片将组织捞起，60℃ 烘箱内烤片。水烤干蜡烤化后取出常温保存备用。切片脱蜡至水-抗原修复-3%的双氧水处理-画圈-血清封闭-一抗4℃过夜孵育-二抗室温孵育-显色-苏木素染核-脱水、透明、封片-镜检，基于Aipathwell人工智能学习的数字病理图像分析软件。采用AI深度学习原理，基于海量数据进行算法训练并集成为自动化图像分析软件。具体过程如下：

1.1循迹：自动定位并沿待测组织圈定待测区域，可根据具体要求手动定位；

1.2选色：根据HSI自动进行阳性判断，可根据具体情况手动修正；

1.3运算：根据需求，软件自动定位细胞核并扩展胞质范围；计算阳性细胞数量以及面积组织面积等不同参数。

1.4分析：高倍下逐步计算待测区域。完成后根据原始基础数据以及算法公式自动对各个项目进行计算得出分析结果，并生成报告。

**第1包 品目1-12 测化费**

1、实验名称：Luminex人类样本多因子检测

2、需求明细：150例急性呼吸窘迫综合征受试者外周血血浆炎症因子分析

3、针对提供的150例受试者外周血血浆进行提取，将合格的血浆样本进行炎症多因子标记（包括但不限于IL-1α、IL-1β、IL-4、IL-6、IL-10、TNF-α、TGF-β、iNOs、Arg-1等），标记完成后，上机检测。获得原始数据后，由公司进行统计和差异分析，从而鉴定受试者血浆中各种炎症因子水平。

**第1包 品目1-13 单细胞测序**

1、实验名称：PBMC单细胞测序（100G）

2、需求明细：5例临床哮喘样本单细胞测序

3、实验工作主要内容及要求：针对提供的5例受试者外周血分离PBMC并提供质检，保证细胞活率≥90%，结团≤5%，有核率≥70%。根据目标细胞数进行相应的上样，上样后，若形成正常GEMs，则将GEMs吸出转移到PCR管中进行反转录及文库构建。库检合格后，上机测序。获得原始测序序列(Sequenced Reads)后，使用10X官方分析软件Cell Ranger及seruat对细胞进行分型和差异分析，后续对这些差异基因进行功能富集，并对分群进行细胞定义。

**第1包 品目1-14 标志物测定费**

一、实验名称：过表达病毒包装

1、需求明细：小鼠Smpd1基因过表达腺相关病毒包装和过表达慢病毒包装

2、实验工作主要内容及要求：针对小鼠Smpd1基因，进行过表达腺相关病毒包装，提供目的病毒和对照病毒各2ml，滴度不低于1\*10^12v.g/ml，用于小鼠体内实验；针对小鼠Smpd1基因，进行过表达慢病毒包装，提供目的病毒和对照病毒各1ml，滴度不低于1\*10^8TU/ml，用于细胞实验

二、实验名称：组织石蜡包埋、HE染色、Masson染色、油红O染色、免疫组化免疫荧光（双标）、普通切片扫描（白光）

1、需求明细：120个组织包埋、100张染色、100张染色、90张染色、90张染色、100张染色、150张扫描

2、实验工作主要内容及要求：新鲜组织经过固定取材脱水透明浸蜡后用特定的包埋模具将前期处理的组织块与融化的石蜡一起包埋成组织蜡块

3、实验工作主要内容及要求：苏木精-伊红染色法 ，简称HE染色法 ，苏木精染液为碱性 ，主要使细胞核内的染色质与胞质内的核糖体着紫蓝色 ;伊红为酸性染料 ，主要使细胞质和细胞外基质中的成分着红色

4、实验工作主要内容及要求：丽春红酸性品红-苯胺蓝染色，是用于检测动物组织中胶原纤维的一种染色方法之一，能够将胶原纤维染成蓝色，肌纤维、和红细胞呈红色，可用于鉴胶原纤维和肌纤维;并显示各种组织胶原纤维含量及纤维化程度。

5、实验工作主要内容及要求：油红O对脂滴的染色机制是借溶液作用使脂质染色，即油红O先溶于60%异丙醇中，然后切片浸入油红O染液中时，油红O在组织脂质的溶解度较60%异丙醇中的溶解度高，所以在染色时油红O从60%异丙醇中转移入脂质中使脂滴显示橙红色至鲜红色，细胞核浅蓝色

6、实验工作主要内容及要求：免疫组化，是应用免疫学基本原理——抗原抗体反应，即抗原与抗体特异性结合的原理，通过化学反应使标记抗体的显色剂(荧光素、酶、金属离子、同位素)显色来确定组织细胞内抗原(多肽和蛋白质)，对其进行定位、定性及定量的研究

7、实验工作主要内容及要求：免疫荧光双重标记即利用抗原抗体特异性结合原理，在同一张切片上两个抗原进行同时标记，从而实现定位，定性，半定量的分析

8、实验工作主要内容及要求：数字切片扫描是将物质化的玻片标本快速数字化的过程，能高效、高清晰、全信息的图像采集，是真正脱离显微镜的阅片方式。能长期保存，可满足临床、科研、教学等多种用途。

**第1包 品目1-15 DNA测序**

1、实验名称：DNA测序

2、需求明细：基因分型、毒力基因检测

3、实验工作主要内容及要求：通过对病原微生物的核酸进行提取、纯化。应用特定引物和Tap酶对目标核酸片段进行变性--退火--延伸三个步骤的聚合酶链反应，通过测序系统获得最终核酸序列，最后将所得序列进行比对和分析，从而对病原微生物毒力基因进行检测。

**第1包 品目1-16 尿蛋白提取**

1、实验名称：尿蛋白提取、定量、质谱检测检测

2、需求明细：240例肺结节炎受试者样本蛋白提取，定量及表达谱情况检测

3、实验工作主要内容及要求：针对提供的240例肺结节尿液样本提取全蛋白并进行蛋白定量检测蛋白浓度，获得尿蛋白样本检测样本中全蛋白的含量，得到表达谱。需要在完成蛋白提取、定量、表达谱数据后，为确保结果的真实性、准确性和清晰性，要求提供蛋白定量的原始数据值。

**第1包 品目1-17 测试费**

1、实验名称：转录组测序及分析，非靶向代谢组学质谱分析

2、需求明细：4例恶性胸腔积液患者T细胞转录组测序及分析、T细胞非靶向代谢组学质谱分析

3、实验工作主要内容及要求：4例恶性胸腔积液患者T细胞，提取RNA，进行纯度(purity)、浓度(quantity)、完整性(RIN)的质量检查。质检合格的RNA进行反转、扩增纯化后，进行文库质检，质检完的文库进行上机测序。获得原始测序序列进行表达和差异分析，后续对这些差异基因进行功能富集。

4、获取4例恶性胸腔积液患者T细胞，使用色谱质谱联用技术来分离和检测样品中的代谢产物。对数据进行归一化和标准化预处理以减少变异。识别与生物学相关的代谢物，包括分子式、分子量和质谱峰强度。

**第1包 品目1-18 基因组测序**

1、实验名称：基因组测序

2、需求明细：基于Illumina完成基因组测序工作，并对测序数据进行质控、分析

3、实验工作主要内容及要求：针对提供的50株真菌进行基因组测序。包括样本基因组提取、质量检测、建库及上机检测。每个样本的测序数据量不少于2G。

**第1包 品目1-19 转录组测序**

1、实验名称：转录组测序

2、需求明细：基于Illumina完成链特异的mRNA测序工作，并对测序数据进行质控、分析

3、实验工作主要内容及要求：针对提供的10个真菌样本进行链特异的mRNA测序。包括样本RNA提取、质量检测、建库及上机检测。每个样本的测序数据量不少于2G。

**第1包 品目1-20 透射电子显微镜检测**

1、实验名称：透射电子显微镜扫描成像

2、需求明细：10个脓毒症小鼠树突状细胞样本采用透射电镜观察内质网自噬的形成及数目

3、透射电子显微镜目前是评估细胞内内质网自噬形成及数目的金标准，本研究基于内质网自噬在脓毒症时树突状细胞功能及生存中的重要作用，结合SESN2表达及其调控内质网自噬的潜在机制，深入探讨SESN2经由内质网自噬改善脓毒症时树突状细胞功能障碍的具体分子机制。内质网自噬评估是本研究的关键研究内容。

**第1包 品目1-21 技术服务费**

1、实验名称：转录组测序，流式分析

2、需求明细：6例胸腔积液单个核细胞转录组测序分析，20例胸腔积液样本蛋白质谱分析

3、实验工作主要内容及要求：

3.1针对提供的10例胸腔积液单个核细胞，提取总RNA，进行反转录及文库构建。库检合格后，上机测序。对样本进行差异基因分析，后续对这些差异基因进行功能富集。

3.2针对提供的10例胸腔积液上清，通过质谱分析方法，检测分析不同类型样本中差异蛋白谱。

**第1包 品目1-22 荧光定量PCR检测及分析**

1、实验名称：肺组织转录组和蛋白质组检测

2、需求明细：6例肺组织样本转录组和蛋白质组学检测和分析

3、针对提供的6例受试者部分肺组织样本进行RNA提取，通过Qubit 4荧光计，精确定量RNA，再进行上机测序，后经过搜库比对，得到基因信息；对剩余肺组织进行总蛋白提取，提取后进行SDS-PAGE质控分析，质控分析合格后，加入胰蛋白酶酶解，酶解形成肽段后，利用修饰抗体进行富集，富集后对肽段，进行HPLC分级，分为6个不同的组分，再分别连续进行质谱检测，获得原始测序序列后，利用Uiport数据库进行搜库比对，得到实际蛋白结果，再与转录组数据进行联合分析，比对理论和实际的蛋白结果，用于后续分析，同时对差异蛋白结果进行功能富集，从而鉴定蛋白对功能特征。

**第1包 品目1-23 流式细胞分析及共聚焦显微镜等**

1、实验名称：外周血有核细胞单细胞测序，蛋白提取、定量、Western Blot检测

2、需求明细：3例肺移植大鼠外周血有核细胞单细胞测序及分析，20例肺移植大鼠样本目的蛋白提取，定量及表达情况检测

3、实验工作主要内容及要求：针对提供的3例肺移植大鼠外周血进行裂解红细胞，提取活的有核细胞，将检测合格的细胞经洗涤、重悬，制备成合适浓度的单细胞悬液。根据目标细胞数进行相应的上样，上样后，若形成正常GEMs，则将GEMs吸出转移到PCR管中进行反转录及文库构建。库检合格后，上机测序。获得原始测序序列(Sequenced Reads)后，使用10X官方分析软件Cell Ranger对细胞进行分型和差异分析，后续对这些差异基因进行功能富集，从而鉴定亚群的功能特征。

4、实验工作主要内容及要求：针对提供的20例组织样本（大鼠肺组织）和细胞样本提取全蛋白并进行蛋白定量检测蛋白浓度，获得蛋白样本按照委托方的顺序排列利用蛋白免疫印迹（Western blot）的实验方法检测5个目的蛋白在样本中的含量，得到条带图。需要在完成蛋白提取、定量、电泳实验后，为确保结果的真实性、准确性和清晰性，要求提供蛋白定量的原始数据值，Western blot条带图片和具体灰度值。

**第1包 品目1-24 VOCs质谱检测**

1、实验名称：肺曲霉菌感染患者呼出气测试分析

2、需求明细：应用气相色谱技术对20例肺曲霉菌感染患者和10例健康者呼出气挥发性有机化合物(VOCs)进行广谱筛查和代谢组学分析，寻找敏感性和特异性曲霉菌感染诊断标志物

3、实验工作主要内容及要求：基于高分辨气相色谱质谱技术（Gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS）建立并优化呼出气中挥发性有机化合物（Volatile organic compounds, VOCs）的分析方法，并对30例受试者的呼出气样本进行检测分析，利用多元统计变量分析方法构建肺曲霉菌感染患者的判别模型，之后结合单变量统计分析中的非参数检验筛选可靠的肺曲霉菌感染患者呼出气标志物，并在此基础上评估标志物的诊断价值，探究其代谢路径

**第1包 品目1-25 用于血清和BALF检测**

1、实验名称：特异性IGG检测 测试费

2、需求明细：50例确诊过敏性肺炎患者的外周血，用特异IGG检测试剂盒检测各种特异IGG

3、实验工作主要内容及要求：针对提供的50例过敏性肺炎患者外周血特异性IGG检测，结合环境问卷，寻找可能现导致过敏性肺炎的吸入抗原；检测方法为酶联免疫吸附法。

**第1包 品目1-26 炎症因子监测**

1、实验名称：20因子检测

2、需求明细：10例呼吸衰竭患者外周血血浆中20种炎症因子的浓度水平

3、实验工作主要内容及要求：收集俯卧位通气前和俯卧位通气后外周血标本，3500 rpm离心5分钟，将血清上清液放入-80°C冰箱保存，统一进行检测20种炎症因子的浓度水平。

**第1包 品目1-27 技术服务费**

1、实验名称：转录组测序，质谱分析，luminex多因子检测

2、需求明细：10例胸腔积液单个核细胞转录组测序分析，10例胸腔积液样本蛋白质谱分析，30例胸腔积液上清多因子检测分析

3、实验工作主要内容及要求：

3.1针对提供的10例胸腔积液单个核细胞，提取总RNA，进行反转录及文库构建。库检合格后，上机测序。对样本进行差异基因分析，后续对这些差异基因进行功能富集。

3.2针对提供的10例胸腔积液上清，通过质谱分析方法，检测分析不同类型样本中差异蛋白谱。

3.3针对提供的30例胸腔积液上清，采用多因子检测方法，检测分析不同类型样本中差异因子表达谱。

**第1包 品目1-28 引物和探针合成费**

1、实验名称：流式检测

2、需求明细：10例肉瘤样癌患者外周血来源外泌体及体外共培养后T细胞亚群流式检测

3、实验工作主要内容及要求：体外将初始CD4+T淋巴细胞与不同表达程度PD-L1的外泌体共培养，利用流式细胞仪检测外泌体PD-L1对初始CD4+T淋巴细胞亚群分化和活性的影响，包括CD3、CD69表面标记，T淋巴细胞表型分化，Treg功能等；比较不同外泌体PD-L1表达的MPE肿瘤细胞来源外泌体mi-RNA谱，发现的差异表达的外泌体mi-RNA，RT-PCR进行验证；分别选取人肺腺癌细胞系进行细胞培养，分离获取外泌体。

**第1包 品目1-29 流式检测**

1、实验名称：Western Blot PD-L1konckdown 细胞系（PD-L1-KD）引物和探针合成

2、需求明细：外泌体表面PD-L1相关的mi-RNA引物探针合成

3、实验工作主要内容及要求：Western Blot和流式细胞检测外泌体含量、细胞沉渣中PD-L1 与外泌体 PD-L1 表达水平；分析PD-L1在肿瘤细胞沉渣和外泌体表面的差异。并用CCK-8法分析给药前后外泌体PD-L1的变化。构建PD-L1konckdown 细胞系（PD-L1-KD），提取外泌体后，比较PD-L1高表达外泌体（exo-PD-L1-NC）和PD-L1敲除细胞 (exo-PD-L1-KD)的差异表达mi-RNA, 分别进行数据库预测和PT-PCR验证。