

附件 1

一、采购需求变更如下：

（五）货物技术规格具体要求

服务项目 1、全基因组测序分析：

一、数量：380 组样本测序

二、服务要求：

1、实验平台：Illumina、PacBio、Oxford Nanopore 等平台。

2、样本准备

2.1、样本收集：收集组织、血液或其他含有 DNA 的样本。

2.2、DNA 提取：使用标准化的方法从样本中提取纯 DNA。

3、文库构建：

DNA 打断→末端修复→加 A 尾→接头连接→片段选择→PCR 扩增后构建文库。

4、上机测序

4.1、测序读长： $\geq 150\text{bp}$ 。

4.2、测序深度：30x-50x 覆盖度

5、数据质控：采用 FastQC、Trimmomatic 质量控制软件。

6、序列比对：使用 BWA, Bowtie2 等软件将测序读段与参考基因组进行比对。

7、结果验证：对于关键的变异位点，使用 Sanger 测序进行验证。

8、对频率、关联分析进行统计分析，生成全基因组测序报告。

三、人员资质：项目团队包含至少一位相关专业硕士及以上学历人员。

服务项目 2、10X Genomics 单细胞测序：

一、数量：25 组样本测序

二、服务要求：

▲1、实验平台：10x Genomics 平台

2、样本采集：将制备好的细胞悬液、10Xbarcode 凝胶磁珠和油滴分别加入到 ChromiumChipB 的不同小室，经由微流体“双十字”交叉系统形成 GEM。细胞悬液浓度：700-1200 细胞/ μl 以内。

3、单个 GEM 依次形成后再全部混合，细胞裂解，凝胶珠自动溶解释放大量引物

序列。

4、释放的引物中包含 30ntpolydT 反转录引物，带有 polyA 的 RNA 被反转录为带有 10X Barcode 和 UMI 信息的 cDNA 一链，再以 SMART 方式完成二链合成；

5、油滴破碎，磁珠纯化 cDNA 一链，然后 PCR 扩增 cDNA；cDNA 扩增完成后酶切片段化并磁珠筛选最适片段，通过末端修复、加 A、接头连接 Read2 测序引物，再以 PCR 方式构建含有 P5 和 P7 接头的 cDNA 文库；

6、构建文库结构，完成测序。

7、完成合同约定的 25 组样本开展单细胞转录组测序项目，数据质量 Q30>85%，无 GC 分离，总数据量不低于 334M reads；

三、人员资质：项目团队包含至少一位相关专业硕士及以上学历人员。

服务项目 3、多组学（空间转录组等）测序及分析

一、数量：10 组样本

二、服务要求：

▲1、实验平台：Illumina 平台、orbitrap astral 平台、Thermo QE HF-X 平台

2、提供从实验设计、样品检测、数据分析一站式代谢组与 16S rDNA 测序整合分析服务，可满足多种检测需求。

3、转录组测序：基于 Illumina 高通量测序平台，在单核苷酸水平上检测任何物种的整体转录水平。在分析转录本的结构和表达水平的同时，发现未知的转录本和稀有的转录本，并能准确识别可变剪切位点和编码序列单核苷酸多态(cSNP)，提供转录组信息。

4、样本收集

4.1、新鲜组织样本进行异戊烷固定、液氮速冻和 OCT 包埋；

4.2、用冷冻切片机进行切片；

4.3、准备 5~10 张切片提取 RNA 并进行质量评估（要求 RIN 值>7.0）；

5、透化条件优化：组织优化玻片包含≥8 个捕获区域，其中≥6 个区域可分别设置 6 个不同的透化时间，另外两个区域 1 个为不加透化剂的阴性对照，另 1 个为阳性对照，不放组织切片，直接加入 RNA。实验流程为：固定→染色→明场拍照→组织透化→荧光 cDNA 合成→组织移除→荧光扫描，根据荧光强度判断最优的透化时间。

6、正式实验。正式实验用的基因表达芯片上有 4 个捕获区域，其实验流程为：染色以及明场拍照→组织透化（用上述优化好的透化时间进行）及 cDNA 合成→文库构建→高通量测序。

7、完成合同约定的 10 组样本开展多组学测序分析项目，数据质量 Q30>85%，总数据量不低于 334M reads/样本

三、人员资质：项目团队包含至少一位相关专业硕士及以上学历人员。

服务项目 4、数据处理比较计算分析

一、数量：80 组样本。

二、服务要求：

▲1、实验平台：阿里云平台、Illumina 分析平台

2、片段分析：可同时检测≥6 种荧光染料。

3、对于通过质量控制的数据，首先将 clean reads 比对到参考基因组上。在 DNA 测序中采用 BWA(mem)进行比对。

4、比对后进行 post-mapping 的步骤，包括 samtools sort、picardmarkduplication、GATK realn、GATK recal

对于通过质量控制的数据，可以进行后续分析。首先需要将 clean reads 比对

5、计算分析包括：

5.1、数据清单。

5.2、数据排序。

5.3、数据筛选。

5.4、数据汇总。

三、人员资质：项目团队包含至少一位相关专业硕士及以上学历人员。

服务项目 5、DNA 合成及测序

一、数量：100 组样本。

二、服务要求：

▲1、实验平台：日立 DNA 测序仪 DS3000、ABI3900

2、DNA 合成：提供 2X HPLC 和 PAGE+HPLC 两种双重纯化方式的超纯引物。

3、按引物修饰的位置可分为五种。分别为 5' -端修饰、3' -端修饰、两端修饰、中间修饰、核苷酸变体修饰。所有修饰引物均采用 HPLC 及以上的纯化方式

4、实验步骤：分离纯化模板→DNA 模板定量分析→测序反应→测序反应后纯化→On-line 变性→毛细管电泳和检测→数据分析。

5、完成 100 组样本的 DNA 合成及测序，交付 2-5pg 含有目的片段的高纯度质粒冻干样品和一管穿刺菌，并提始测序谱图、质粒图、酶切图和序列比对图。

三、人员资质：项目团队包含至少一位相关专业硕士及以上学历人员