采购项目技术和商务要求

1. 项目概况

招标方提供符合伦理且无传染无危害等生物安全性问题的组织样本，需要投标供应商进行组织样本制备成单细胞核悬液，完成8个样本10x genomics单细胞核转录组测序；平均每个样本产生100G二代测序平台clean data（单个样本数据量往下浮动小于10%）,完成1个样本S1000空间转录组测序；平均每个样本产生60G二代测序平台clean data（单个样本数据量往下浮动小于10%）。

1. 服务要求

**（一）质量要求**

1.组织解离细胞核悬液合格标准（须同时满足）

(1)细胞核活性:<5%；

(2)结团率:<15%；

(3)细胞核浓度范围:700-1200cells/ul；

(4)细胞核直径范围:<40um。

2.测序质量要求

（1）cDNA峰形呈正态分布状,介于500bp-8000bp,主峰1000bp左右；

（2）cDNA文库浓度≥lng/ul；

（3）文库测序数据量≥I00GBasc（根据实际细胞核捕获数而定）；

（4）Q30>85%；

（5）测序数据基因组比对率≥85%；

（6）目标捕获细胞核数浮动范围在50%以内；

（7）细胞核平均reads>20k；

（8）细胞核基因中位数≥600；

（9）线粒体基因比率<25%的细胞占比70%以上；

（10）鉴定的细胞类型正常，包含组织实质细胞和免疫细胞等类群。

**（二）设施设备要求**

1.10X Genomics系统参数

（1）系统可产生≥75万个独立的液滴反应体系；

（2） 可提供≥4百万种不同的标记barcodes；

（3） 细胞捕获效率达到60%以上（目标捕获细胞数~8000）；

（4）一次可同时处理样本数量≥8个。

2.生物信息分析服务器配置

（1）计算节点：280个；

（2）存储节点:40个（分布式存储）；

（3）CPU物理核/线程总数:7840个/15680个；

（4）运行内存：60TB；

（5）存储总容量:20PB；

（6）—级存储:10PB；

（7）二级存储:10PB；

（8）分析时间:①低通量模式：<8样本并行分析72h；②高通量模式：满负荷运行最大支持并行分析样本不设上限。

**（三）数据分析要求**

提供标准分析（差异基因功能富集分析，细胞聚类分析，细胞周期鉴定等）+高级分析（拟时序分析，细胞通讯分析，加权分析等）+定制化分析（根据客户实际需求确定）。

A 10x genomics单细胞转录组分析要求如下：

1. 标准分析内容

**数据质控拆分及表达定量**

(1) 下机数据测序质量值分布统计；

(2) 测序数据产出统计；

(3) 文库质量评估：测序饱和度分析，基因水平定量分析

(4) 单细胞数据基本分析：细胞核数目统计，单个细胞核reads数目统计等；

**单样本分析-基因水平**

(5) 根据基因表达矩阵进行细胞聚类分析；

(6) 基因表达量分析：基因表达定量；不同样本基因表达量总体分布分析（两个或以上样本）；

(7) 差异表达基因分析（两个或以上样本）；标记基因分析，已知细胞类型鉴定；

(8) 各cluster标记基因蛋白互作分析；

(9) 差异表达基因聚类分析（两个或以上样本）；

(10) 差异表达基因TF预测（仅限人和鼠）；

(11) 差异表达基因蛋白互作分析；

(12) 差异表达基因疾病数据库注释（仅限人）；

(13) 差异表达基因的功能注释及富集分析：差异表达基因GO功能富集；差异表达基因KEGG通路富集分析与pathway 功能分析；

(14) 各cluster 基因集富集分析；

(15) 亚群拟时轨迹分析；

(16) 细胞周期鉴定（仅限人和鼠）；

**多样本合并分析-基因水平，样本数>=2**

(17) 细胞聚类分析；亚群比例分析；

(18) 亚群间的基因差异表达分析；

(19) 亚群的标记基因分析，已知细胞类型鉴定；

(20) 各亚群不同组间基因差异表达分析(group>=2)；

(21) 差异基因GO分析；

(22) 差异基因KEGG pathway分析；

(23) 差异基因蛋白互作分析；

(24) 差异基因疾病数据库注释（仅限人）；

(25) 差异基因TF分析（仅限人和鼠）；

(26) 各cluster 基因集富集分析；

(27) 细胞周期鉴定（仅限人和鼠）；

2.高级分析内容

(1) 拟时序分析；

(2) 细胞通讯分析；

(3) GSEA分析；

(4) GSVA分析；

(5) 肿瘤拷贝数变异分析；

(6) 转录因子活性分析；

(7) 加权基因共表达网络分析。

3.定制化分析

提供cellphonedb分析及cellchat分析，其他根据采购单位实际需求确定。

**B S1000空间转录组分析要求如下：**

1. 标准分析

**数据质控拆分及表达定量**

1. 下机数据测序质量值分布统计；
2. 下机数据碱基含量分布；
3. barcode拆分，有效spot数目统计，每个spot reads数目/UMI统计,饱和度统计等；
4. 与参考基因组比对；
5. 图像处理；
6. 基因表达定量分析

**单样本分析-基因水平**

1. 根据基因表达矩阵进行spot聚类分析：Graph-based和K-means；
2. Seurat过滤并进行spot聚类分析：Graph-based
3. 基因表达量分析：基因表达定量；不同样品基因表达量总体分布分析（两个或以上样品）；
4. 差异表达基因分析（两个或以上样品）；空间各cluster特异表达基因分析；
5. 各clusterTop10差异基因空间分布/小提琴图/t-SNE/UMAP散点图/聚类热图展示；
6. 各cluster标记基因蛋白互作分析；
7. 差异表达基因聚类分析（两个或以上样品）；
8. 差异表达基因TF预测（仅限人和鼠）；
9. 差异表达基因蛋白互作分析；
10. 差异表达基因疾病数据库注释（仅限人）；
11. 差异表达基因的功能注释及富集分析：差异表达基因GO功能富集；差异表达基因KEGG通路富集分析与pathway 功能分析；
12. 各cluster 基因集富集分析；

**多样本合并分析-基因水平，样本数>=2**

1. 多样本合并spot聚类分析：Graph-based；cluster比例分析；
2. Seurat过滤并进行spot聚类分析：Graph-based；
3. 亚群间的基因差异表达分析；
4. 空间各cluster特异表达基因分析；
5. 各clusterTop10差异基因空间分布/小提琴图/t-SNE/UMAP散点图/聚类热图展示；
6. 各亚群不同组间基因差异表达分析(group>=2)；
7. 差异基因GO分析；
8. 差异基因KEGG pathway分析；
9. 差异基因蛋白互作分析；
10. 差异基因疾病数据库注释（仅限人）；
11. 差异基因TF分析（仅限人和鼠）；
12. 各cluster 基因集富集分析；
13. **其他要求**

无

三、商务要求

★（一）交付（服务）时间、地点

1.交付（服务）时间：合同签订之日起3个月内完成测试及后续分析。

2.交付（服务）地点： 甲方指定地点。

★（二）售后服务

投标供应商须提供分析培训服务（包括线下课程或线上培训视频课程等，不小于20课时），并及时提供的分析相关问题解答。

★（三）保密要求

对采购单位提供的人员、地址、采购情况等信息要保守秘密，不得向外界透露。中标通知书发出后，采购单位将与中标供应商签订保密协议。

★（四）付款方式

签订合同后支付预付款50%，服务完成后，合同乙方向采购单位提交发票、验收报告等结算资料，采购单位在30天内向乙方支付剩余款项。

（五）验收方式

数据验收标准：合同乙方交付所有样本测序数据、交付数据分析结果。所有文件均通过云交付以及硬盘拷贝交付。