采购项目内容和参数

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **序号** | **服务名称** | **服务内容和技术要求** |
| 1 | PCR扩增产物一代测序 | 1. 样本及目的需求：对未纯化PCR扩增产物采用一代测序技术完成DNA测序,以及按照采购方的需求合成测序、鉴定所需引物、探针，并完成序列拼接。 2. ★sanger测序：提供的测序色谱图文件（\*.abi） 峰形清晰，碱基信号值可信，峰值明显。提供的结果为测序序列（\*.fas或\*.fasta）、同一样本双向测序经拼接后产生的序列（\*.fas或\*.fasta）、测序色谱图文件（\*.abi）。 3. ★引物合成：具有合成常规引物、常见探针、特殊碱基合成能力，根据测序样本送检前的标本鉴定需要，提供对应的引物、探针（包含特殊碱基）合成服务。常规引物纯化方式为PAGE方式，探针纯化方式为HPLC。 4. ★提供测序服务的公司通过ISO质量管理体系认证，并提供相关材料证明。 5. 具备进化分析和序列重组位点生信分析能力，完成采购方提供所得序列与参考序列之间的核苷酸和氨基酸相似性；对测序基因组部分区域构建maximum-likelihood病毒进化树，不少于1,000 bootstrap评估；使用Simplot等进行序列重组分析；使用贝叶斯MCMC法等进行时间序列分析和进化率计算。 6. 结果反馈地点及数量：按照采购方要求发往指定服务地点。   8、供应商负责样品运输，运输过程中造成的损失、污染以及各类纠纷，后果均由供应商承担，运输费用由供应商承担。  9、样本交接：根据采购人的要求，在指定地点不定期进行标本交接，样本运输必须在干冰条件下运输。   1. 未经采购人同意，供应商不得将完成相关检测后剩余的样本移交第三方机构或用于危害国家安全事宜。 2. 测序数据知识产权为采购方独有，未经采购方同意，服务供应商不得私自公开或使用。 3. 样本检测时限：以收到样品日期为准，3～8个工作日内完成检测并返回结果。若样本未检出或峰图有杂峰等无法分析，重测也如此，视为此次测序无效，采购方将不支付相应费用。 4. 结算方式：按实际检测份数和项目中标单价结算。 |
| 2 | 细菌全基因组测序 | 使用合适且公认的DNA提取试剂盒和处理方法提取灭活样本中的DNA，利用二代平台完成文库的测序，数据质量Q30＞85%，测序模式为PE150，总数据量不低于1G clean data。完成基因组评估、基因组组装与预测、基因注释、可移动元件分析、基因组圈图分析、代谢系统分析、致病系统分析、基因型分型、比较基因组分析等，具有数据分析团队和服务器集群分析平台，拥有二代平台实验能力，能够独立完成细菌基因组扫描图测序及数据分析工作，样本质检合格后，30个自然日内完成细菌基因组测序及分析工作。  ★1、如若DNA提取需在具有ISO 9001质量管理体系认证实验室操作，标准流程提取。使用NanoDrop2000检测DNA纯度和浓度，使用Quantus Fluorometer(Picogreen)检测DNA浓度，使用琼脂糖凝胶电泳检测DNA完整性（提供DNA质控报告，内容包括：DNA纯度、浓度、琼脂糖DNA凝胶电泳图谱，以及DNA质检结果评估合格与风险等级）。  ★2、构建测序文库，使用二代平台进行PE150双端测序。  ★3、每个检测样本的数据量不低于1G clean data，最终组装得到的scaffold不超过100个，基因组覆盖度≥95%，平均测序覆盖深度>100x。  4、数据产出：每个样本测序产出有效数据量不低于1G clean data，Q30>85%。若数据质量不合格，投标方需免费补测或重测直至数据质量符合要求。  ★5、具有数据分析团队和服务器集群分析平台，能够提供专属高级细菌基因组云分析流程，可在线自主设置参数动态交互分析（提供云平台交互分析操作的相关截图），包含至少30+项分析。  5.1、分析内容：  （1）测序数据质控：对原始测序数据进行质控；  （2）基因组评估：对初步组装得到的基因组序列进行质量评估，如GC\_depth分析、K-mer频率分析、基因组覆盖度分析等；  （3）基因组组装和预测：利用质控后的符合要求的Clean data进行从头组装得到基因组序列，对组装序列进行基因预测，得到每个样本的基因位置及序列信息，如基因组组装、质粒鉴定与注释、基因预测、持家基因预测、SRNA预测、重复序列预测、假基因预测等；  （4）基因注释：对预测得到的编码基因进行功能注释，如参考基因组注释、基础注释（包括NR、Swiss-prot、Pfam、COG、GO、KEGG）、注释汇总等；  （5）可移动元件分析：如基因组岛分析、前噬菌体预测、CRISPR-Cas分析、整合子分析、插入序列分析、转座子分析等；  （6）基因组圈图分析：将各种信息综合展示在一张基因组圈图中，全面展示基因组的特征，如CGView基因组圈图、Circos基因组圈图等；  （7）代谢系统分析：全面了解细菌基因组关键代谢系统，如碳水化合物活性酶注释、次级代谢产物合成基因簇分析等；  （8）致病系统分析：如毒力基因预测、耐药基因预测、病原菌宿主互作分析、耐药基因ResFinder预测、分泌系统分析、分泌蛋白分析、转运蛋白分析、跨膜蛋白预测、双组分调控系统分析等；  （9）基因组查询：从基因组整体层面进行分析，通过结构分析更全面的掌握该样本基因组情况，如启动子预测、旁系同源基因、基因比对查询、基因组图谱、基因搜索等；  （10）基因型分型：对细菌基因型进行准确的鉴定分型，如MLST分型、cgMLST分型等；  （11）比较基因组分析：基于基因组图谱和测序基础上，对已知的基因和基因组结构进行比较，如同源基因分析、共有特有基因分析、代谢通路比较分析、进化树分析等。  5.2、云平台要求：能够提供高级细菌基因组云分析流程，可在线自主设置参数动态交互分析，分析呈图标准化，符合CNS期刊要求；能够提供400+款的小工具助力科研。  6、数据交付：  6.1、数据要求：每个检测样本的数据量不低于1G clean data，Q30>85%；最终组装得到的scaffold不超过100个，基因组覆盖度≥95%，平均测序覆盖深度>100x。  6.2、检测周期：按批次送样，投标方在收到采购方确认启动信息后3个自然日内安排人员进行上门取样本，收到样本后5个自然日提供样本DNA质检报告，25个自然日完成建库测序，5个自然日完成云平台分析。  6.3、交付内容：包括但不限于质检合格的原始数据、完整的结题报告（交互式云平台+PDF静态(交互结果可插入报告)，含质检报告，提取和测序建库批次以及日期等信息，DNA检测质量信息）、前处理流程及质控方法材料（中英文版参考资料）。采用移动硬盘进行数据或者网络传输，移动硬盘由采购方提供并且主要信息安全保密工作，如网络传输需增设密码。  6.4、数据存储：在项目结算完成全部数据交付后，投标方承诺数据保存时间不少于1年。  6.5、样本的保存及返回：应采购方需求提供样品保存和返还服务，保存和返还时限为自数据交付之日起5个月内。  7、（商务要求）售后服务要求：  7.1、投标方需定期进行项目进展汇报，使采购方及时掌握项目进度。在项目进展环节，提供实时且透明化的项目进展情况反馈服务。  7.2、截止采购方发表本项目主体部分论文为止，投标方需积极配合解决相关数据结果的问题并提出可行性建议。  7.3、投标方需配备至少1名相应技术人员对项目做售前、售后的技术指导及支持，硕士学位及相关分子生物学专业以上学历，具有3年及以上相关工作经验。  7.4、投标方需提供24小时售后服务，采购方可通过官网、邮件、电话等其他方式与相应的技术人员沟通交流。  7.5、针对项目提出的相关问题，投标方需2小时内电话或邮件回复；双方商定解决方案后，24小时内给出进展反馈。  7.6、投标方应提供不少于一次的测序数据解读数据相关说明，积极配合招标方进行后期样本分析及样本回溯，提供售后服务支持。  7.7、投标方应详细列出售后服务中心地址、电话、负责人和服务组织机构。必须保证针对本项目有单独建立的服务档案，使用、维护情况必须得到完整的记录，以保证提供的售后服务准确、周到、及时。 |
| 3 | 细菌宏基因组测序 | 对临床样本进行细菌性宏基因组测序及分析。使用合适且公认的DNA提取试剂盒或处理方法提取临床样本中的DNA，利用平台完成文库的测序，数据质量Q30＞90%，测序模式为PE150，总数据量不低于10G clean data。完成物种/基因/功能的注释分析、组成分析、比较分析、差异分析，针对筛选出来的差异物种/基因/功能进行关联与模型预测分析等，具有数据分析团队和服务器集群分析平台，拥有检测平台实验能力，独立完成宏基因组测序及数据分析工作，样本质检合格后，30个自然日完成宏基因组学检测及分析工作。  ★、如若DNA提取需在具有ISO 9001质量管理体系认证（提供相关证明材料）实验室操作，标准流程提取。使用NanoDrop2000检测DNA纯度和浓度，使用Quantus Fluorometer(Picogreen)检测DNA浓度，DNA浓度在2ng/μL以上，总量在0.15μg以上，OD260/280应在1.7~2.1之间；使用琼脂糖凝胶电泳检测DNA完整性，有清晰的电泳条带，没有明显的降解。  ★2、构建平台测序文库，文库浓度在1ng/uL以上，体积≥20ul，接头污染占比＜10%，主峰片段大小在300-600bp之间。  ★3、进行PE150双端测序，每个检测样本的数据量不低于15G clean data，Q30>90%。  4、数据产出：每个样本测序产出有效数据量不低于15G clean data，碱基类型分布均匀且无分离现象，测序Q30＞90%。若数据质量不合格，投标方需免费补测或重测直至数据质量符合要求。  ★5、具有数据分析团队和服务器集群分析平台，提供专属医学高级宏基因组云分析流程，在线自主设置参数动态交互分析（提供云平台交互分析操作的相关截图），包含至少60+项的标准分析和高级分析。  5.1、标准分析：  （1）下机数据的质控：使用软件专业软件 对原始测序数据进行质控。  （2）拼接组装：通过专业拼接软件，选择合适的组装策略（多重混合拼接、单拼Megahit、单拼IDBA-UD、单拼SOAPdenovo2），选择拼接效果最佳的序列。  （3）基因预测：必须对拼接结果中的contigs进行ORF预测。  （4）非冗余基因集构建：使用CD-HIT对所有样品预测出来的基因序列进行聚类，每类取最长的基因作为代表序列，构建非冗余基因集。  （5）基因信息统计：使用专业软件，分别将每个样品的高质量reads与非冗余基因集进行比对（95% identity），统计基因在各个样本中的丰度信息，可提供多种丰度计算方法。  （6）物种与功能注释：使用DIAMOND将非冗余基因集与7个常规注释数据库（NR、COG、KEGG、CAZy、ARDB、CARD、VFDB）进行比对，获得物种和功能的注释信息，通过计算得到物种丰度表和功能丰度表。  （7）Alpha多样性分析：基于物种丰度表和功能丰度表，进行Alpha多样性分析及Alpha多样性指数组间差异检验（提供9种Alpha多样性指数）。  （8）物种与功能组成分析：基于物种丰度表和功能丰度表，进行物种与功能组成分析，如Venn图、组成Bar图和Pie图、群落Heatmap图等。  （9）物种/功能比较分析：基于物种丰度表和功能丰度表，进行物种/功能比较分析，如样本层级聚类分析（提供26种距离算法）、PCA分析、PCoA分析等。  （10）物种/功能差异分析：基于物种丰度表和功能丰度表，进行物种/功能差异分析，如比较分析（可提供8种差异检验方法）、LEfSe分析、代谢通路组间差异分析等。  （11）临床因子关联分析：基于物种丰度表和功能丰度表，进行临床因子关联分析，如VIF方差膨胀因子分析、RDA/CCA分析、db-RDA分析、相关性heatmap图等。  （12）物种与功能关联分析：基于物种丰度表和功能丰度表，进行物种与功能关联分析,如物种与功能贡献度分析、物种与功能回归分析等。  （13）诊断模型构建与网络分析：基于物种丰度表和功能丰度表，进行诊断模型构建与网络分析，如共现性网络分析、单因素相关性网络分析等。  5.2、高级分析：可额外提供8个个性化功能注释数据库的注释数据，并基于7+8个物种丰度表和功能丰度表，进行上述标准分析及以下高级分析，满足不同研究方向的客户需求：  （1）物种与功能差异分析，如iPath通路图分析等。  （2）临床因子关联分析，如VPA方差分解分析、排序回归分析等。  （3）诊断模型构建与网络分析，包括：随机森林分析、ROC分析等。  （4）提供分泌蛋白、T3SS效应蛋白预测分析。 （5）物种/功能网络与表型之间的关联关系 ，如加权基因共表达网络WGCNA分析。 （6）基因集合或基因组数据中功能模式富集程度分析，如KEGG功能富集分析。 5.3、云平台要求：能够提供高级宏基因组云分析流程，云平台必须拥有完善的资料体系，综述、FAQ、文献案例解析、视频教程、分析Tips五位一体；可在线自主设置参数动态交互分析，分析呈图标准化，符合CNS期刊要求；能够提供400+款的小工具助力科研。  6、数据交付：  6.1、数据量：每个样本测序产出有效数据量不低于10G clean data，碱基类型分布均匀且无分离现象，测序Q30＞90%。  6.2、检测周期：如需投标方人员进行上门取样本，收到样本后5个自然日提供样本DNA质检报告，25个自然日完成建库测序，5个自然日完成云平台分析，个性化分析周期另行商议，且越快越好。  6.3、交付内容：包括但不限于质检合格的原始数据、完整的结题报告（交互式云平台+PDF静态(交互结果可插入报告)，含质检报告，提取和测序建库批次以及日期等信息，DNA检测质量信息）、前处理流程及质控方法材料（中英文版参考资料）。采用移动硬盘进行数据或者网络传输，移动硬盘由采购方提供并且主要信息安全保密工作，如网络传输需增设密码。  6.4、数据存储：在项目结题完成全部数据交付后，投标方承诺数据保存时间不少于1年。  6.5、样本的保存及返回：应采购方需求提供样品保存和返还服务，保存和返还时限为自数据交付之日起5个月内。  7、（商务要求）售后服务要求：  7.1、投标方需定期进行项目进展汇报，使采购方及时掌握项目进度。在项目进展环节，提供实时且透明化的项目进展情况反馈服务。  7.2、截止采购方发表本项目主体部分论文为止，投标方需积极配合解决相关数据结果的问题并提出可行性建议。  7.3、投标方需配备至少1名相应技术人员对项目做售前、售后的技术指导及支持，硕士学位及相关分子生物学专业以上学历，具有3年及以上相关工作经验。  7.4、投标方需提供24小时售后服务，采购方可通过官网、邮件、电话等其他方式与相应的技术人员沟通交流。  7.5、针对项目提出的相关问题，投标方需2小时内电话或邮件回复；双方商定解决方案后，24小时内给出进展反馈。  7.6、投标方应提供不少于一次的测序数据解读数据相关说明，积极配合招标方进行后期样本分析及样本回溯，提供售后服务支持。  7.7、投标方应详细列出售后服务中心地址、电话、负责人和服务组织机构。必须保证针对本项目有单独建立的服务档案，使用、维护情况必须得到完整的记录，以保证提供的售后服务准确、周到、及时。 |
| 4 | 病毒全基因组测序 | 1. 对客户提供的病毒基因组文库，利用二代测序平台，PE150及以上或其他测序模式进行测序。 2. 具有生信数据分析团队和服务器集群分析平台，拥有二代平台实验能力，能够独立完成病毒基因组扫描图测序及数据分析工作。 3. 按批次送样，投标方在收到采购方确认启动信息后3个自然日内安排人员进行上门取样本；样本质检合格后， 15个自然日内完成病毒基因组测序及分析工作。   4. 数据要求：每个样本原始数据量（碱基数）≥1G，Q30>90%；基因组覆盖度≥95%，平均测序覆盖深度>100x,每个位点覆盖度>30 x。  5. 生信分析内容：   1. 测序数据质控：对原始测序数据进行质控； 2. 基因组评估：对初步组装得到的基因组序列进行质量评估，如GC\_depth分析、K-mer频率分析、基因组覆盖度分析等； 3. 基因组组装：利用质控后的符合要求的Clean data多软件对序列进行从头组装，获得参考基因组序列, 4. 比较基因组分析：基于基因组图谱和测序基础上，对已知的基因和基因组结构进行比较，如同源基因分析、共有特有基因分析、代谢通路比较分析、进化树分析等。 5. 根据客户需求进行变异位点功能预测、SNP、重组、进化等数据分析。   6、 云平台要求：能够提供高级病毒基因组云分析流程，可在线自主设置参数动态交互分析，分析呈图标准化，符合CNS期刊要求；能够提供400余款的生信分析小工具。  7、数据交付：   1. 交付内容：包括但不限于质检合格的原始数据、完整的结题报告（交互式云平台+PDF静态(交互结果可插入报告)，含质检报告，提取和测序建库批次以及日期等信息，DNA检测质量信息）、前处理流程及质控方法材料（中英文版参考资料）。采用移动硬盘进行数据或者网络传输，移动硬盘由采购方提供并且主要信息安全保密工作，如网络传输需增设密码。 2. 数据存储：在项目结算完成全部数据交付后，投标方承诺数据保存时间不少于1年。 3. 样本的保存及返回：应采购方需求提供样品保存和返还服务，保存和返还时限为自数据交付之日起5个月内。   8、（商务要求）售后服务要求：   1. 投标方需定期进行项目进展汇报，使采购方及时掌握项目进度。在项目进展环节，提供实时且透明化的项目进展情况反馈服务。 2. 截止采购方发表本项目主体部分论文为止，投标方需积极配合解决相关数据结果的问题并提出可行性建议。 3. 投标方需配备至少1名相应技术人员对项目做售前、售后的技术指导及支持，具有3年及以上相关工作经验。 4. 投标方需提供24小时售后服务，采购方可通过官网、邮件、电话等其他方式与相应的技术人员沟通交流。 5. 针对项目提出的相关问题，投标方需2小时内电话或邮件回复；双方商定解决方案后，24小时内给出进展反馈。 6. 投标方应提供不少于一次的测序数据解读数据相关说明，积极配合招标方进行后期样本分析及样本回溯，提供售后服务支持。   投标方应详细列出售后服务中心地址、电话、负责人和服务组织机构。必须保证针对本项目有单独建立的服务档案，使用、维护情况必须得到完整的记录，以保证提供的售后服务准确、周到、及时。 |
| 5 | 病毒宏组测序参考参数 | 1.对未知病毒种类和含量的样本进行宏病毒组测序及分析。完成核酸提起、文库构建、上机测序、数据分析。  ★2.使用合适且公认的病毒核酸提取试剂盒或处理方法提取核酸，使用合理的去除宿主核酸的方法去除游离核酸。★3.构建PE150测序文库，文库浓度在1ng/uL以上，体积≥20ul，主峰片段大小在300-600bp之间。  ★4. 进行PE150双端测序，数据质量Q30＞90%，总数据量细胞来源的病毒样本不低于 1G clean data，其他来源的病毒样本不低于10G clean data。  5.对数据进行处理，去除非病毒相关的数据  6.对测得的病毒序列完成尽量拼接，并进行物种注释分析、组成分析、比较分析、差异分析，针对筛选出来的有意义的物种进行同源性分析、遗传变异分析等。  7.具有数据分析团队和服务器集群分析平台，拥有检测平台实验能力，独立完成宏病毒组测序及数据分析工作。8.标准分析：  8.1下机数据的质控：使用专业软件对原始测序数据进行质控获得clean data。  8.2去除非病毒reads：使用数据库比对，去除宿主、细菌等非病毒的reads。  8.3物种注释：将reads比对到数据库进行病毒的分类（界门纲目科属种），统计各物种reads数并作图  8.4拼接组装：通过专业拼接软件，选择合适的组装策略（多重混合拼接、单拼Megahit、单拼IDBA-UD、单拼SOAPdenovo2），拼接序列进行NR NT比对，交付最佳比对结果。  8.5多样性分析及差异分析：对合适的数据进行α多样性和β多样性分析，及样本（组）间差异分析。  个性化分析：  9数据交付：  9.1 数据量：细胞来源的病毒样本不低于 1G clean data，其他来源的病毒样本不低于10G clean data；碱基类型分布均匀且无分离现象，测序Q30＞90%。  9.2 检测周期：收样后，30个自然日完成检测及分析工作。  9.3交付内容：包括但不限于质检合格的原始数据、完整的结题报告（交互式云平台+PDF静态(交互结果可插入报告)，含质检报告，提取和测序建库批次以及日期等信息，DNA检测质量信息）、前处理流程及质控方法材料（中英文版参考资料）。采用移动硬盘进行数据或者网络传输，移动硬盘由采购方提供并且主要信息安全保密工作，如网络传输需增设密码。  9.4 数据存储：在项目结题完成全部数据交付后，投标方承诺数据保存时间不少于1年。  9.5 样本的保存及返回：应采购方需求提供样品保存和返还服务，保存和返还时限为自数据交付之日起5个月内。  10.（商务要求）售后服务要求：  10.1投标方需定期进行项目进展汇报，使采购方及时掌握项目进度。在项目进展环节，提供实时且透明化的项目进展情况反馈服务。  10.2 截止采购方发表本项目主体部分论文为止，投标方需积极配合解决相关数据结果的问题并提出可行性建议。  10.3 投标方需配备至少1名相应技术人员对项目做售前、售后的技术指导及支持，硕士学位及相关分子生物学专业以上学历，具有3年及以上相关工作经验。  10.4 投标方需提供24小时售后服务，采购方可通过官网、邮件、电话等其他方式与相应的技术人员沟通交流。  10.5 针对项目提出的相关问题，投标方需2小时内电话或邮件回复；双方商定解决方案后，24小时内给出进展反馈。  10.6 投标方应提供不少于一次的测序数据解读数据相关说明，积极配合招标方进行后期样本分析及样本回溯，提供售后服务支持。  10.7 投标方应详细列出售后服务中心地址、电话、负责人和服务组织机构。必须保证针对本项目有单独建立的服务档案，使用、维护情况必须得到完整的记录，以保证提供的售后服务准确、周到、及时。遗传进化分析：拼接到优质病毒序列进行突变分析、进化树分析等。 |
| 6 | 引物合成 | 1.引物长度：35mer；  2.纯化方式：PAG；  3.每条引物4 OD，按照每管1 OD分装。 |
| 7 | 探针合成 | 1.引物长度：35mer；  2.纯化方式：HPLC；  3.每条探针2 OD，按照每管1 OD分装；  4. 5’和3’端标记荧光修饰基团和淬灭修饰基团。（引物末端修饰：5端常见荧光基团，包括FAM,VIC,HEX,CY3,CY5,ROX等，3端常见淬灭基团修饰，包括：BHQ1,BHQ2等） |