**2024肥胖儿童脂肪性肝病肠道菌群的特征研究及诊疗新策略项目采购需求**

**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：**

本次招标采购是为首都儿科研究所购置2024肥胖儿童脂肪性肝病肠道菌群的特征研究及诊疗新策略项目，投标人应根据招标文件所提出的技术规格和服务要求，综合考虑设备的适用性，选择需要最佳性能价格比的设备前来投标。投标人应以技术先进的设备、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 | 标的名称 | 数量 | 是否接受进口产品 |
| 1 | 测试化验加工服务 | 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（服务期限）：收到样品后提供数据时间为30个自然日。

2、采购项目（标的）交付的地点（服务地点）：采购人指定地点。

**三、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（以各包技术规格中要求为准，如技术规格中无要求，则以本款要求为准。）**

详见七、采购招标的需满足的质量、安全、技术规格、物理特性等要求。

**（二）采购标的需满足的服务期限要求**

1.服务期限（质保期）：质保期一年。数据验收合格之日起，提供原始数据保存及数据维护服务，每年至少提供一次上门数据维护服务。

**五、采购标的物验收标准**

1、交付内容：投标人需向采购人提供完整的项目结题报告。结题报告中应包含实验过程用到的所有重要设备的制造厂商、型号以及所有重要试剂的投标人、纯度。其中，深度全部达到验收标准，即表明该项目达到合同中的要求。

2、验收方式：投标人将结题报告上传至生信云平台并将相应的账号密码通过邮件发送至合同基本信息中确定的采购人项目联系人的电子邮箱，采购人在收到结题报告查阅通知邮件后于生信云平台上查阅结题报告并签署项目确认单后下载结题报告，即视为客户验收。

**六、采购标的的其他技术、服务等要求**

投标人需按照招标文件要求提供项目需求理解分析和质量保证措施、测试化验加工服务方案、拟投入项目团队实施人员、售后服务方案、服务承诺等。

**七、采购标的需满足的质量、安全、技术规格、物理特性等要求：**

**第1包测试化验加工服务**

**一、商务要求**

1、交货期：收到样品后提供数据时间为30个自然日。

2、样本及数据保存

2.1、数据保存期限：投标人在数据验收合格之日起，免费对项目数据保存周期≥12个月，如采购人需要投标人延期保留数据，应于期限届满前10个工作日向乙方提出书面申请，免费延期保留数据最长≥1 年；

2.2、数据验收合格之日起，提供原始数据保存及数据维护服务，每年至少提供一次上门数据维护服务；

2.3、样本保存期限：投标人承诺在项目结题或中止后（数据验收合格之日起），继续免费保存样本≥6个月。样本保存期间，投标人严格按照实验室管理规范进行样本存储管理。

3、付款方式：详见合同条款。

4、售后服务：

（1）免费提供数据个性化分析处理；

（2）负责原始数据上传及材料方法写作部分；

（3）技术问题解答：投标人提供免费解答项目中所涉及的任何有关上述模型定制、合成、测序、产品制备等所有该项目涉及的过程中产生的技术问题、数据分析等内容，不再另收取其他任何有关该项目的费用。若有必要，收到采购人通知24小时内，投标人需到现场进行指导培训或解答技术问题。

（4）咨询、投诉响应时间：项目进行过程中24h小时内指派合格的技术人员进行回复，其他无法迅速解决的问题，一周内解决或提出明确解决方案；采购人收到结果24小时内，发现该项目的任何问题，投标人需要将在24小时内给出解决方案，优先满足采购人实验需求。

（5）要求投标人在项目所在地具有完善的售后服务队伍，及时响应采购人的服务要求。

5、技术支持：投标人应及时免费提供项目课题设计、数据解读、功能验证等技术支持。

**6、服务确认：**投标人在收到采购人签订合同后七个工作内同采购人商讨详细的技术细节，之后于七个工作日内确认并开始启动项目。

**7、质量担保：**要求所有提供的产品及检测技术均符合行业有关标准进行生产、检验合格的产品或技术，能完全满足采购人的技术要求。

**8、中标承诺：**保证中标后,投标人在合同规定的时间内有专业项目经理定期汇报所涉及该项目中任何产品的实验进展。投标人的项目管理人员及相关技术人员得到合理调配，实现合同期内完成相关工程量。

**9、测试质量不符合用户要求需免费重新测试。**

**二、技术要求**

### （一）细菌框架图测序

1、采用 Illumina PE150 进行测序。

2、琼脂糖凝胶电泳（AGE）分析DNA的纯度和完整性。

3、使用Qubit对DNA浓度进行精确定量。

4、使用 Qubit2.0 进行初步定量，稀释文库至 2ng/ul，使用Agilent 2100 对文库进行检测，使用Q-PCR方法对文库的有效浓度进行准确定量（文库有效浓度≥3nM）。

### （二）16S rDNA测序

1、宏基因组DNA提取：根据不同的样品类型采用不同的提取方案，获得宏基因组DNA。

2、DNA质量检测：Nanodrop检测DNA样品浓度及纯度；琼脂糖凝胶电泳检测DNA样品完整性。

3、16s可变区PCR扩增：引物设计扩增可变区的特定区段（V3-V4区）。

4、第二次PCR扩增：在DNA分子两端引入接头序列及index序列。

5、文库质检：Agilent 2100 Bioanalyzer检测文库大小分布，Qubit 3.0或荧光定量PCR测定文库浓度。

6、上机测序：根据数据量要求将文库pooling上机测序。

7、数据分析：下机数据由专业生物信息分析团队进行数据分析，提供全面数据分析报告。

8、样品要求

8.1、样品类型：Meta样品，如粪便、土壤等或Meta DNA样品。

8.2、样品量：Meta样品≥2g，DNA样品≥2μg；

8.3、样品质量：DNA无明显降解，无蛋白污染，OD260/280值≥1.5，OD260/230值≥1.0，浓度≥30 ng/μL。

8.5样品保存：DNA样品，可将DNA溶于Nuclease Free 超纯水中，-20℃保存。样品保存期间避免反复冻融。

8.6样品运输：样品置于1.5 mL管中，封口膜封好，冷冻运输。

9、测序方案

9.1 测序模式：Miseq PE300。

9.2 测序数据量：≥0.05M clean reads。

10.生物信息分析内容

10.1基础分析

10.1.1 原始数据处理及统计；

10.1.2 可变区域验证；

10.1.3 操作分类单元（OTU）聚类及分析；

10.1.4 单样本物种分类及丰度分析；

10.1.5 多样品物种丰度分析；

10.1.6 Alpha多样性分析；

10.1.7 Beta多样性分析；

10.2 高级分析

10.2.1 样品差异主要因子分析；

10.2.2 组间显著性差异分析；

10.2.3 系统进化树构建；

10.2.4 个性化分析；

### （三）细菌全基因组测序（完成图）

1、测序平台要求:DNBSEQ-T7 测序仪≥2 台；测序策略及深度:PE150;深度≥40X；

2、技术方法流程:收样、DNA质检、WGS 文库构建、文库质检、上机、基本数据处理及拆分、数据解读、多中心数据收集维护；

3、质检方法:要求文库 qubit 检测、片段分布检测和 qPCR 定量检测，并在投标文件中说明相应的质检判定标准；

4、质检反馈:要求质检评估标准合理，不得以偏离标准容许范围内的上限来定义样本的合格情况,不得以苛刻条件评判样本的合格率,变相削减测序机构应尽的检测义务;测序机构在收到采购单位样品及相关纸质版和电子版信息单后开始样品检测;要求测序机构在3个工作日内完成样品检测,并出具质检报告,及时跟采购单位沟通后安排上机，5 个工作日内完成数据交付(按批次)。

5、上机要求:未经采购人同意，不得与非本项目的其他外来样本混合上机。

6、数据要求:每个样本产生的数据量≥120G rawdata，Q30≥85%;因测序机构定量不准或其他非采购人自身样本原因引起的数据量不足，免费补测;碱基类型分布均匀，无 GC分离(39%-42%)。

7、数据交付:每批次数据下机于5个工作日交付，技术服务成果交付的形式为包括但不限于文库质检报告、原始数据(rawdata)、结题报告等，能清晰展示样本检测日期结果等情况。投标人将数据通过上传华为云平台返回数据，同时返回当批次文库构建与测序实验的质控报告。

### （四）代谢组测序

1、-80℃干冰寄送组织在4℃环境解冻，使用70%甲醇水内标提取液分离代谢小分子。

2、色谱柱使用Waters ACQUITY UPLC HSS T3 C18 1.8 µm, 2.1 mm\*100 mm。

3、质谱仪器质量数范围：MS1（m/z）≥4000Da；MS2（m/z）≥100000Da；分辨率:≥175.000(FWHM)，碰撞室具有两级碰撞功能。

4、检测器可检测正负离子和采集MS和MS/MS数据，TDC转换速率≥4.0GHz。

### （五）病理分析

1、染色前处理

1.1、取材：取材厚度0.2cm～0.3cm；

1.2、固定：使用福尔马林在常温下固定8～4h；

1.3、浸蜡：浸蜡温度在58～60℃；

1.4、切片厚度：3～4μm；

1.5、硅化玻片的制备：载玻片经酸洗冲洗干净后烤干；2% APES丙酮或无水酒精中浸泡1-2min；丙酮或无水酒精洗1-2分钟；蒸馏水浸洗1-2min；

1.6、烤片：切片在60℃～65℃烤箱中烤片30～60分钟左右。

2、免疫组化实验操作规范

2.1、脱蜡：二甲苯、酒精、蒸馏水；

2.2、内源性过氧化物酶的消除：采用0.3%H2O2作用切片10min；

2.3、血清封闭；

2.4、抗体使用：抗体孵育温度一般以常温25℃为基准或37℃，孵育时间30分钟，也可4℃冰箱过夜；

2.5、冲洗：使用PBS作为缓冲液冲洗；

2.6、检测：使用ABC系统进行检测。

### （六）细胞因子检测

1、检测指标：IL-1β、IL-1ra、IL-6、IL-8、MCP-1、VEGF、MIP-1a、IL-10、IP-10 、RANTES和Substandce十一个因子水平检测。

2、测序平台与软件：luminex多因子检测试剂盒、FLEXMAP 3D检测仪、xPONENT分析软件。

3、一次可检测多个指标、可绝对定量，样本用量：100-200uL甚;

4、实验流程：样本预处理、上样、洗涤非特异、加入检测试剂、上机检测、结果分析与计算；

5、样本要求：房水样本200ul，-80℃冻存，干冰运输。

6、数据质控：标准样品监控。

7、数据分析：

7.1、数据处理：根据标准样本读值绘制标准曲线，得到样品浓度与读值对应公式。将样品读值带入公式，计算获得每个样品孔样品浓度。

7.2、比对及质控：标准样本读值绘制标准曲线的R^2≥0.98，标准样本读值绘制标准曲线公式计算标样浓度，与试剂盒对应的浓度之间的误差：±20%以内。

### （七）转录组测序

1、RNA质量检测

1.1、对使用抽提的RNA进行Nanodrop检测，检测RNA 的纯度(OD260-280)、核酸吸收峰是否正常及初步的浓度定量;

1.2、Qubit 对 RNA 浓度进行精确定量;

1.3、Agilent 2100 精确检测 RNA 的完整性，包括:RIN 值、28S-18S、图谱基线有无上抬、5S 峰。

2、文库质控

2.1、使用 Qubit2.0 进行文库的初步定量，使用 Agilent 2100 对文库的 insert size 进行检测；

2.2、Q-PCR 方法对文库的有效浓度进行准确定量(文库有效浓度>2nM)，完成库检；

2.3、使用 Illumina HiSeq 平台进行测序，测序数据量≥6G。