**一、项目名称**

CellTiter-Glo细胞活力检测和单细胞转录组测序服务项目

|  |  |
| --- | --- |
| 包件号 | 报价内容 |
| 1 | CellTiter-Glo细胞活力检测和单细胞转录组测序服务 |

**二、服务详细技术要求**

（一）CellTiter-Glo细胞活力检测

(1)细胞铺板

①使用10 ml移液管去除培养基，加入1 ml PBS清洗，随后加入1 ml胰酶进行消化，最后加入1 ml培养基终止消化。轻轻吹打混匀，吸出培养皿中的液体，转移至15 ml离心管中，以1000 rpm离心5分钟，去除培养基后加入1 ml培养基重悬并计数。

②根据细胞计数仪的结果，计算稀释细胞液体的所需量，准备72 ml的细胞液（总计3.6\*10^6个细胞）。将已标记的子板放入multidrop中，每孔加入20 μl（1000个/孔）细胞液。

③将板子放入培养箱中培养24小时。

(2)加化合物

①将母液板以1500 rpm离心30秒。

②取干净的中间板（3701），放入multidrop，加入49 μl DMSO。

③使用Bravo吸取1 μl化合物母液加入中间板（3701），混匀（选取20 μl体积进行）。最后一步需将枪头排空，配成50 μl、200 μM的化合物溶液。

④使用Bravo吸取1 μl体积200 μM的化合物，打开子板的盖，加入化合物后立即关上盖子。

⑤在超净台中，使用移液枪在最后一列的三个孔中各加入1 μl DMSO，盖好盖子，放入培养箱中培养72小时。

备注：根据Bravo板架的数量和位置，程序化稀释一块母液板，并完成一块子板的加样，重复六次以完成六块子板的加样。

(3)CellTiter-Glo® 2.0实验

①将CellTiter-Glo® 2.0试剂提前放置于工作台上30分钟，待室温融化，使用前轻轻颠倒以确保混匀。

②润洗cassette：使用50 ml超纯水进行润洗，随后用50 ml PBS进行润洗。

③将3701板放入multidrop，每孔加入65 μl CellTiter-Glo® 2.0试剂（第一次加样）。

④将已加入CellTiter-Glo® 2.0试剂的板子放入Bravo，取20 μl加入子板，盖上盖子。

⑤完成三块子板加样后，取出3701板，回到multidrop补加65 μl/孔CellTiter-Glo® 2.0试剂。

⑥继续利用Bravo取20 μl CellTiter-Glo® 2.0试剂加入子板，盖上盖子。

⑦完成一块子板加样后，震荡2分钟，室温避光孵育10分钟。

⑧使用酶标仪逐块板子检测发光值。

（二）单细胞转录组测序

(1)实验部分

①细胞准备：对单细胞悬液进行质检和计数，一般要求细胞存活率在 80%以上；将检测合格的细胞经洗涤、重悬，制备成合适的细胞浓度（700~1200 cells/μL），以备进行 10x Genomics Chromium™系统上机操作。

②GEM 生成和标签化：根据预期获得目的细胞数目上样，构建 GEMs（Gel Beads in Emulsion）进行单细胞分离；GEMs 正常形成后，收集 GEMs 在 PCR 仪中进行反转录实现标签化。

③Post GEM-RT 纯化和 cDNA 扩增：对 GEMs 破油处理，用磁珠纯化富集第一链 cDNA，然后进行 cDNA 扩增和质检。

④文库构建和定量：将质检合格的 cDNA 进行二代测序文库构建，经片段化、连接测序接头、样本 Index PCR 等实验过程，最终对文库定量质检。

⑤上机测序：对构建完成的文库进行测序，使用 Novaseq Xplus高通量测序平台，采用 PE150 测序模式，建议测序量达到 20 k reads/cell 及以上。

(1)生物信息学分析部分

①原始数据质控和统计：采用 Fastp 对下机后数据（raw reads）质量进行基本的统计。针对每一个样本的原始测序数据进行测序相关质量评估，包括A/T/G/C 碱基含量分布统计及碱基错误率分布统计。

②测序数据统计与评估：得到测序数据之后，需要对这部分数据进行质量评估。使用 10x Genomics 官方软件 Cell Ranger 对原始数据进行质控。Cell Ranger 使用比对软件 STAR，将测序获得的 reads 比对到参考基因组上，可以获得样本数据的高质量细胞数、基因数、基因组比对信息等质控结果。

③单细胞水平的药物敏感性预测模型的构建：以单细胞水平测序数据结合小分子药物的理化特性，在现有自测数据基础上，整合各种药理学、单细胞测序数据、bulkseq测序数据等不同尺度、不同组学数据，利用大规模算力和前沿的生成式人工智能大语言模型（LLM）进行动态、多尺度、高参数建模，并基于建模结果进一步发掘受试小分子药物的药物敏感性、耐受性、相关人体生理生化指标等多种下游任务。

（三）检测设施设备要求

multidrop (standard cassette)、细胞计数仪、multidrop (small cassette)、Bravo、酶标仪、高通量测序仪Illumina NovaSeq XPlus

（四）其他要求

（1）供应商应为本项目配备足够的专业人员，满足项目检测要求。

（2）严格执行合同相关规定，对测试数据保密。

★（3）测试数据所有权和使用权为上海交通大学附属新华医院所独有。在投标文件中提供承诺。

（五）售后服务要求

（1）提供技术咨询及售后服务，承诺4小时内响应；

（2）为本项目配备专业生物信息技术服务团队，团队成员具备生物信息培训服务能力，并提供单细胞生物信息培训班学习视频及其他组学网络课程资源；

（3）提供云平台分析工具的使用权限。

（六）报价要求：

投标报价采用单价报价，即细胞活力检测： 元/次；单细胞转录组测序服务： 元/样本。

投标人的投标报价必须包含提供相关服务的所有费用，包括：所有人力成本、操作成本、管理费用、增值税和其他全部税费等。招标人不再另行支付其他费用。

（七）验收要求

服务根据合同的规定完成后，招标方应及时进行根据合同的规定进行服务验收。供应商应当以书面形式向招标方递交验收通知书，招标方在收到验收通知书后的10个工作日内，确定具体日期，由双方按照合同的规定完成服务验收。招标方有权委托第三方检测机构进行验收，对此供应商应当配合。

**（二）最高限价**

人民币80万元

**（三）资格条件**

（1）投标人须具有独立承担民事责任的能力；

（2）投标人须具有良好的商业信誉和健全的财务会计制度；

（3）投标人须具有履行合同所必需的专业技术能力；

（4）投标人须有依法缴纳税收和社会保障资金的良好记录；

（5）投标人参加政府采购活动前三年内，在经营活动中没有重大违法记录；

（6）投标人在近三年内未被国家财政部指定的“信用中国”网站（www.creditchina.gov.cn）、“中国政府采购网”（www.ccgp.gov.cn）列入失信被执行人、重大税收违法案件当事人名单、政府采购严重违法失信名单；“国家企业信用信息公示系统”（http://gsxt.saic.gov.cn/） “行政处罚信息（较大数额罚款）”、“列入经营异常名录信息”、“列入严重违法失信企业名单（黑名单）信息”

（7）单位负责人为同一人或者存在直接控股、管理关系的不同单位，不得参加同一包件的竞争或者未划分包件的同一采购项目的竞争；

（8）本项目不接受联合体投标；

（9）法律、行政法规规定的其他条件。

**（四）商务要求**

1、交付期限：自收到检测样本次日起，至投标人完成全部样本的检测并向上海交通大学医学院附属新华医院交付项目结果，不超过3个月（90天）

2、服务地址：上海市控江路1665号

3、付款方式：

（1）分期付款，按照实验检测批次，按时结算。

（2）支付上限：人民币80万元