胃癌样本常规转录组测序用户需求书

## 一、常规转录组测序

1.送检样本为冷链运输的胃癌组织；预计2250例样本。

2.胃癌组织样品进行转录组建库测序，BGI PE150，数据量 10Gb。

3.转录组生信分析。

4.转录组测序数据存储。

## 二、技术需求：

（一）试验方法

1.对人胃癌组织样本进行RNA抽提、Nanodrop检测浓度及纯度，2100或4200检测RNA的完整性；

2.经检测合格的RNA样本进行 poly(d)T反转录；

3.双链cDNA的合成；

4.测序文库构建；

5.文库质检，判断条带大小是否符合预期，浓度及峰形是否正常；

6.文库进行高通量测序；

7.对下机数据进行初步的数据质控，合格的样本数据继续进行后续分析。

（二）分析需求

\*1测序数据质量控制；

对原始测序数据进行质量控制获取 Clean Reads，预处理软件为 fastp，过滤标准如下：

(1) 去接头(adaptor)；

(2) 去除低质量 reads；

(3) 从 3' 端及 5' 端以不同方式去除低质量碱基；

(4) 统计原始测序量、有效测序量、Q30、GC 含量，并进行综合评价；

\*2.参考基因组比对；

利用 hisat2 将 Clean Reads 与指定的参考基因组进行序列比对，获取在参考基因组或基因上的位置信息，以及测序样本特有的序列特征信息，比对结果经过 samtools 转换格式。

\*3.基因分析；

1）表达量计算和统计；

2) 样本相关性分析与PCA 分析；

3)差异表达基因分析，利用 DESeq2 对基因 counts 进行差异分析；

4)差异比较火山图；差异基因聚类热图；

5)GO 功能富集分析（富集圈图、富集气泡图、柱形图绘制、差异富集气泡图）；

6)KEGG 功能富集分析（富集圈图、富集气泡图、柱形图绘制、差异富集气泡图）；

7)蛋白互作网络分析（PPI分析）；

8)GSEA 分析。

（三）项目周期与数据存储周期

文库质检合格后，不超过15个工作日给出原始数据。

## 三、商务要求

1、总价包干，包括但不仅限于人工费、耗材，税费等项目实施完成所需的一切费用。与本项目实施有关的内容如未在报价清单中列明的，则视作供应商已考虑并已包含在其他报价中。投标人应认真计算可能发生的各相关费用并计入投标报价内，在项目实施过程中不得藉此要求增加任何费用。

2、付款方式：中标人若为中小企业，合同生效以及具备实施条件后7个工作日内，向中标人支付合同金额的20%作为预付款，预付款在后续合同款中作相应抵扣，剩余部分按实结算。在签订合同时，中标人明确表示无需预付款的，可不支付预付款。

中标人若为大型企业，服务结束后付款。