一、检测项目：10X单细胞转录组测序

二、技术要求：获得新鲜组织，经过经洗涤、酶解、重悬，制备成合适浓度的单细胞悬液。通过流式细胞分选出目的细胞群，根据目标细胞数进行相应的上样，上样后，观察包裹Gel beads、样品以及酶的混合物的油滴（GEMs）是否能够正常形成，将GEMs吸出转移到PCR管中进行反转录及文库构建。库检合格后，上机测序，采用Illumina Hiseq PE150或NovaSeq PE150测序策略。针对下机数据进行质量评估，然后使用10X官方分析软件Cell Ranger进行数据比对和细胞/UMI计数，生成细胞-基因表达矩阵，然后进行下游的细胞分群和亚型鉴定、基因功能等分析。

三、具体参数要求：

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **项目名称** | **参数要求** | | **采购量（年）** |
| **10X 单细胞转录组测序项目** | 服务内容：利用Illumina HiseqXten/NovaSeq平台，对采购单位提供的样本的10X genomics文库进行单细胞转录组文库建库测序 | | 预计61个样本，以实际为准。 |
| 组织解离以及细胞标记： | 1. 对组织样本进行单细胞悬液制备，保证细胞活性不低于85%，并获得满足实验条件的细胞数目 |
| 2. 每个样本捕获的细胞数目不少于5000个 |
| 平台要求： | 3. 提供供应商从事同类科研服务的证明资料☆ |
| 4. 供应商需拥有10x Genomics单细胞标记建库平台☆ |
| 5. 供应商发布的在转录调控层面IF>20的SCI文章情况，提供证明资料☆ |
| 6. 供应商须对当天取样并制备单细胞悬液的要求进行响应☆ |
| 7.提供供应商实施本检测项目的实验室情况，包括地址、实验室设备配置等，满足本检测服务的实施要求☆ |
| 团队要求： | 8. 需要专门的项目管理、技术支持、售后服务团队。提供本项目具体人员姓名、学历、工作经验、本项目分工等情况 |
| 测序需求： | 9. 利用10x Genomics单细胞文库制备平台制备单细胞文库，转录组文库90G |
| 10. 使用Illumina HiseqXten/NovaSeq高通量测序平台进行PE150测序。 |
| 11. 测序质量要求：10X genomics文库质检合格后，每个转录组文库测序数据量不低于90G，测序Q30>75%。 |
| 12. 项目周期：文库质检合格后，不超过10个工作日给出报告。 |
| 13. 数据存贮周期：不少于3个月。 |
| 数据验收标准： | 14. 交付所有测序原始数据以及cleandata |
| 售后服务： | 15. 成果交付两年内，供应商提供免费的项目咨询服务。 |