附件1

耳聋模型细胞及动物实验服务需求表

**（一）科研项目规划与采购**

根据医院提供科研课题内容，制定相关的实验实施方案，明确相关实验定时进展汇报及阶段性计划内容周期，经医院相关人员审核后执行。

提供科研项目预算编制服务，明确各项费用明细，经医院审核后严格执行。

提供相关实验场地和实验服务，包括细胞系购买、基因敲除动物定制/购买、抗体、染液等试剂耗材采购、细胞培养、动物饲养及检测等。所有需经费支出的项目须与医院相关人员沟通审核后方可实施。

**（二）细胞实验**

（1）试剂耗材

HEI-OC1耳蜗毛细胞系、pou4f3、gjb2、strc、cdc14a抗体、凋亡指示相关抗体等。

1. 具体实施内容

① 瞬时敲低或构建pou4f3敲低HEI-OC1耳蜗毛细胞系后，检测gjb2、strc、cdc14a基因mRNA及蛋白质表达情况。

② 瞬时敲低或构建pou4f3基因敲低、pou4f3/gjb2基因共敲低、pou4f3/strc基因共敲低、pou4f3/cdc14a基因共敲低、pou4f3/gjb2/cdc14基因共敲低细胞系，观察HEI-OC1耳蜗毛细胞形态、生长、存活、分化等情况。

③ 使用pou4f3抗体对HEI-OC1耳蜗毛细胞内源的pou4f3进行染色质免疫共沉淀测序（ChIP-seq）检测。

**（三）动物实验**

（1）试剂耗材

小鼠构建、相关抗体耗材等。

（2）具体实施内容

① pou4f3、gjb2、strc、cdc14a基因敲除小鼠构建。同时经基因型鉴定后通过杂交构建pou4f3/gjb2基因共敲除、pou4f3/strc基因共敲除、pou4f3/cdc14a基因共敲除、pou4f3/gjb2/cdc14基因共敲除小鼠模型。

② 听性脑干反应（ABR）：选取5周至15月龄小鼠麻醉后转移至测听隔音室内。使用ABR检测模式，分别用混音（Click）和不同频率下的声音进行刺激，使用收集信号并记录听力阈值。

③ 畸变产物耳声发射检查（DPOAE）：选取5周至15月龄小鼠麻醉后转移至测听隔音室内，选择DPOAE检测模式检测不同频率下刺激的听力阈值，后续数据收集与小鼠操作程序同听性脑干反应。

④ 行为学检测前庭功能：每天固定时间训练小鼠，通过转棒实验、游泳实验对每只小鼠进行三次平行实验，最终采用三次实验结果的平均值作为测定的结果，测定小鼠前庭功能是否受到影响。

⑤ 小鼠耳蜗基底膜免疫荧光染色：处死幼鼠后分离出小鼠内耳耳蜗，固定后进行基底膜分离，使用毛细胞标记物Myosin VIIA进行免疫荧光染色观察小鼠毛细胞的形态、数量、生长发育情况。

**（四）其他要求**

1.优先选择能够提供快速现场支持及定期面对面协作的服务商。

2.需提供历史业绩：需提供近3年参与的同类科研项目案例（附合同关键页或成果摘要），包括：

合作发表的SCI论文（需标注机构贡献）、参与的国家、省级课题（需注明角色）、成功交付相关实验案例。

3.严谨数据保真条款：机构需签署《科研数据真实性承诺书》，明确数据篡改、伪造的处罚措施（包括经济赔偿与公开通报）；关键实验节点（如小鼠模型鉴定、ChIP-seq）需邀请医院方参与第三方复核；未议定事宜由双方协商，但须以数据可追溯性为原则。

3.根据科研服务需求对于一些未议定事宜由双方协商一致后开展。